

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marin Raić

# ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Marin Raić

Novi derivati kumarina: sinteza domino reakcijama i strukturna  
karakterizacija

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Članovi povjerenstva:

1. Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević
2. Dr. sc. Lidija Furač, viši predavač
3. Dr. sc. Andrijana Meščić, poslijedoktorand

Zagreb, rujan 2016.

## SAŽETAK

U ovom radu prikazana je sinteza i strukturna karakterizacija derivata kumarina (**1-3**) i 5-feniletinil-2-hidroksibenzaldehida (**4**). Domino reakcijom pripravljen je, iz 3-acetamido-2-okso-2*H*-kromen-7-il acetata (**1**) nastalog u prvom koraku Perkinovom reakcijom, 3-azido-7-hidroksi-2*H*-kromen-2-on (**2**). Mikrovalovima potpomognutom „click“ reakcijom 3-azido-7-hidroksi-2*H*-kromen-2-ona (**2**) s (4-bromfenil)acetylenom uz Cu kao katalizator sintetiziran je 1,2,3-triazolni derivat kumarina **3**. Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 5-brom-2-hidroksibenzaldehida i fenilacetilena uz (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd kao katalizator i CuI kao kokatalizator te uz bazu Et<sub>3</sub>N pripravljen je spoj 5-feniletinil-2-hidroksibenzaldehid (**4**). Strukturna karakterizacija pripravljenih spojeva provedena je <sup>1</sup>H NMR spektroskopijom.

Ključne riječi: 2*H*-kromen-2-on, 7-hidroksikumarin, domino reakcija, „click“ reakcija, Sonogashira-ina reakcija, <sup>1</sup>H NMR spektroskopija

## SUMMARY

This work describes the synthesis and structural characterization of coumarin derivatives (**1-3**) and 5-phenylethynyl-2-hydroxybenzaldehyde (**4**). Domino reaction, from the resulting 3-acetamido-2-oxo-2*H*-chromen-7-yl acetate prepared in the first step by Perkin reaction, gave 3-azido-7-hydroxy-2*H*-chromen-2-one (**2**). Microwave assisted "click" reaction of 3-azido-7-hydroxy-2*H*-chromen-2-one (**2**) with (4-bromophenyl)acetylene catalysed with Cu afforded 1,2,3-triazole derivative of coumarin **3**. 5-Phenylethynyl-2-hydroxybenzaldehyde (**4**) was synthesised by Sonogashira cross-coupling reaction of 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde and phenylacetylene in the presence of (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd as a catalyst, CuI as co-catalyst and Et<sub>3</sub>N as a base. The structural characterization of the prepared compounds was carried out by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy.

Keywords: 2*H*-chromen-2-one, 7-hydroxycoumarin, domino reaction, "click" reaction, Sonogashira cross-coupling reaction, <sup>1</sup>H NMR spectroscopy

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost HRZZ-5596.

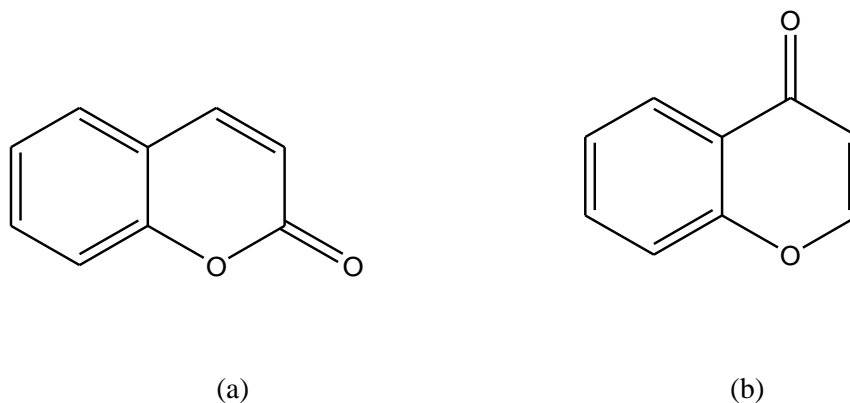
## SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OPĆI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. Benzo- $\alpha$ -pironi (kumarini).....	2
2.1.1. Kemija kumarina.....	4
2.1.1.1. Reaktivnost kumarina .....	4
2.1.1.2. Reakcije derivata kumarina.....	5
2.1.2. Sinteza kumarina.....	7
2.1.2.1. Koevenagel-ova reakcija .....	7
2.1.2.2. Perkin-ova reakcija.....	7
2.1.2.3. Pechmann-ova reakcija .....	8
2.1.3. Biološka aktivnost kumarina i njegovih derivata .....	9
2.1.3.1. Antikancerogena aktivnost.....	9
2.1.3.2. Antioksidativna aktivnost .....	10
2.1.3.3. Antikoagulacijska aktivnost.....	11
2.1.3.4. Ostale biološke aktivnosti .....	12
2.1.4. 7-hidroksikumarin .....	13
2.1.4.1. Sinteza 7-hidroksikumarina .....	14
2.1.4.2. Biološko djelovanje 7-hidroksikumarina .....	16
2.2. Domino reakcije.....	17
2.2.1. Podjela domino reakcija.....	18

2.2.2. Domino reakcije u sintezi derivata kumarina.....	19
2.3. "Click" reakcije.....	19
2.3.1. "Click" reakcije u sintezi derivata kumarina.....	21
2.4. Sonogashira-ina reakcija .....	22
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>23</b>
3.1. Opće napomene .....	23
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva.....	24
3.3. Priprava spojeva .....	25
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>27</b>
4.1. Sinteze spojeva.....	27
4.2. Strukturna karakterizacija spojeva $^1\text{H}$ NMR spektroskopijom.....	31
<b>5. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>36</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>37</b>

## 1. UVOD

Benzopironi su biljni polifenolni spojevi flavonoidnog tipa, a u ovu grupu spojeva pripadaju benzo-  $\alpha$ -pironi (Slika 1a.) češće imenovani kao kumarini i benzo- $\gamma$ -pironi (Slika 1b.).[1] Jedina razlika između ove dvije skupine benzopirona je u položaju karbonilne skupine na pironskom prstenu.[2]



Slika 1. Struktura: a) benzo- $\alpha$ -pirona i b) benzo- $\gamma$ -pirona

Kumarin (2*H*-1-benzopiran-2-on) je prirodni biljni produkt poznat po svojim farmakološkim i neuroprotektivnim svojstvima.[3] Po prvi put kumarini su identificirani 1820. godine kao kisikovi heterociklički spojevi prepoznatljivi po mirisu vanilije ili svježeg pokošene trave.[4] Proučavanje kumarina započelo je prije 200 godina, a prvi puta kumarin je izoliran iz biljke *Coumarouna odorata* Aube (*Dipteryx odorata*) 1820. g., po kojoj je i dobio ime (kumarú je naziv za drvo na jeziku južnoameričkih indijanaca iz Francuske Gvajane). Kumarini su kemijski spojevi koji se nalaze u biljkama, osobito u tonka sjemenkama, lazarkinji i bizonskoj travi, kao i u gospinoj travi, jagodama, višnji i cimetu.[5] Kumarine nalazimo u većoj količini u nekim eteričnim uljima, osobito ulju cimeta, ulju lista kineskog cimeta (kajsije) i lavandinom ulju, a također ga nalazimo i u biljkama kao što je cikorijska. Kumarine u prirodi nalazimo kao slobodne ili u obliku heterozida.[5] Spojevi s dva ili više heterocikla imaju važnu ulogu u prirodnim i sintetskim bioaktivnim spojevima. Uključivanjem drugog heterocikličkog dijela, kao supstituenta ili fuzionirane komponente u kumarinu, mijenjaju se svojstva spoja. Upravo zbog širokog raspona bioloških i fizikalnih svojstava, kumarini postaju sve zanimljiviji kemičarima za istraživanje.[6]

Sintetska organska kemija znatno je napredovala unazad 10 godina. Razvijeno je nekoliko visoko selektivnih postupaka koji su omogućili pripremu složenih molekula sa izvrsnom regio-, kemo-, diastereo- i enantioselektivnošću. Unatoč odličnim otkrićima i



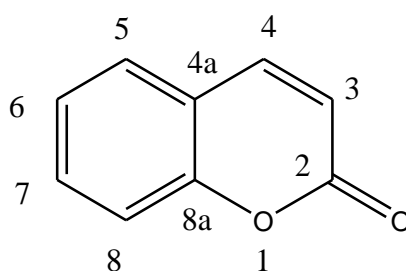
važnostima kemije u ljudskim životima, javlja se problem negativnog utjecaja na okoliš zbog nepotpunog iskorištenja reaktanata pri čemu se smanjuje iskorištenje konačnog produkta. Primjenom domino reakcija kao ključnih reakcija za odvijanje procesa, smanjuje se količina otpada a također i količina primijenjenog otapala, reagensa, adsorbensa i energije.[7] Domino reakcije također imaju i ključnu ulogu u biosintezi prirodnih produkata.[8]

"Click" reakcija je postala jedna od najnaprednijih postupaka kemijske transformacije u različitim područjima kombinatorne i polimerne kemije. Tijekom reakcije, uvjeti se stalno mijenjaju u skladu sa različitim svojstvima reaktanata te upravo naći prikladnu reakciju je cilj uspješne "click" reakcije. Upravo zbog svoje pouzdanosti i specifičnosti, privukla je pažnju kemičara.[9]

## 2. OPĆI DIO

### 2.1. Benzo- $\alpha$ -pironi (kumarini)

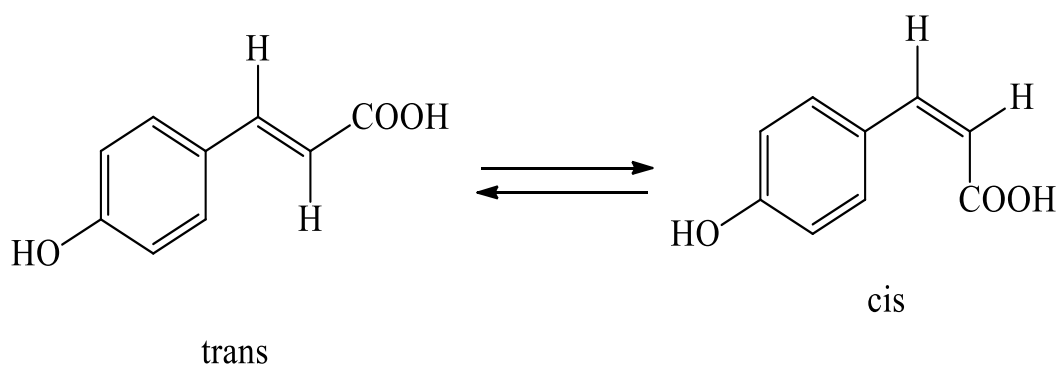
Kumarini ili benzo-  $\alpha$ -pironi pripadaju skupini benzopirona. Kumarini (Slika 2.) (poznati kao 1,2-benzopironi ili *2H*-1-benzopiran-2-oni) obuhvaćaju veliku skupinu fenolnih derivata koji se nalaze u biljkama. Sastoje se od kondenziranog benzenskog i  $\alpha$ -pironskog prstena.[4]



Slika 2. Struktura kumarina s numeriranim prstenom

Nakon njihove identifikacije 1820. godine, počela je ujedno i njihova proizvodnja a od 1868. godine primjenjuju se u proizvodnji aroma i parfema. Identificirano je više od 1300 kumarina, većinom samo sekundarni metaboliti u zelenim biljkama, gljivama i bakterijama. Kumarini se

smatraju fitoaleksinima jer ih biljke same proizvode kao obrambene tvari kada je biljka napadnuta od strane drugog organizma.[4] Struktura kumarina proizlazi iz cimetine kiseline preko *o*-hidroksiliranja, *cis-trans* izomerizacije dvostruke veze u pobočnom lancu i laktonizaciji. *Trans* izomer je stabilniji u odnosu na *cis*, koji zbog svoje nestabilnosti nastoji prijeći u *trans* izomer (Shema 1).[1]

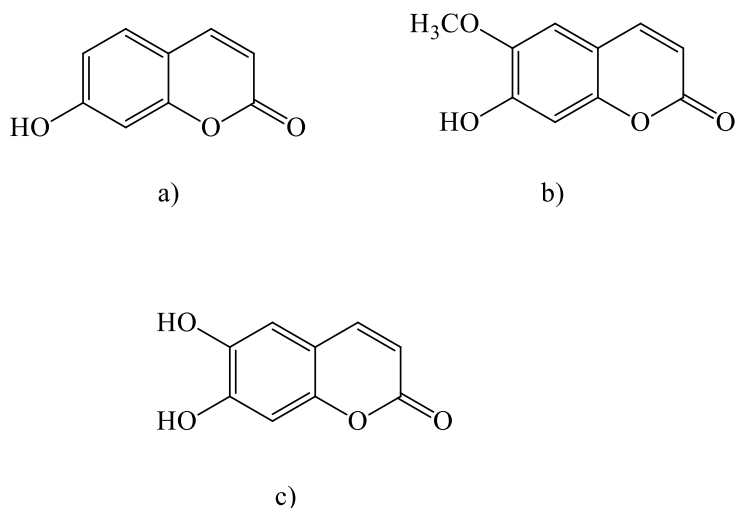


Shema 1. *Cis-trans* izomerizacija kumarina

Zbog svojih biokemijskih svojstava, kumarini se upotrebljavaju u kliničkoj medicini za liječenje različitih kliničkih stanja. Osim svog stimulativnog učinka na makrofage, kumarini su pokazali da aktiviraju i ostale stanice u imunološkom sustavu te primjenom lijekova na bazi kumarina sprječavaju kronične infekcije kao što su mononukleza, mikrop plazmoza i toksoplazmoza.[1]

Prirodni kumarini su od velikog interesa zbog svojih raširenih farmakoloških svojstava što potiče kemičare za daljnu detaljnu analizu i otkrivanje novih terapijskih sredstava.[3] Kumarin se koristi kao sredstvo za fiksiranje i pojačavanje u parfemima i dodaje se sapunu i detergentima, pasti za zube, duhanskim proizvodima i nekim alkoholnim pićima, koristi se kao zaslađivač, pojačivač prirodnih ulja primjerice kod lavande, dodatak hrani u kombinaciji s vanilinom. Velike količine se koriste kao dodatci gumi i plastičnim materijalima, kao i u bojama i sprejevima za neutralizaciju neugodnih mirisa.

7-hidroksikumarini, eskuletini i skopoletini su najrašireniji kumarini u prirodi (Slika 3.).[1]



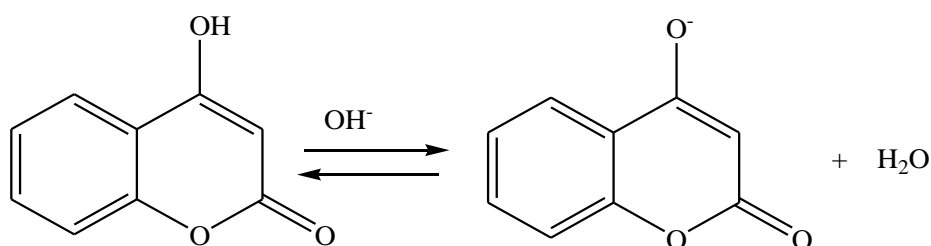
Slika 3. Strukture a) 7-hidroksikumarina, b) skopoletina i c) eskuletina

Kumarini obavljaju različite modulatorne funkcije i omogućavaju zaštitu stanica te se upravo zbog takvih funkcija koriste u terapijama protiv različitih oblika bolesti.[4] S obzirom na utvrđenu nisku toksičnost, prisutnost u prehani i biljnim lijekovima te činjenicu da su relativno jeftini kumarini se i dalje proučavaju.[3] Njihova bakteriostatska i antitumorska djelovanja čine ove spojeve zanimljivom okosnicom za razvoj i istraživanje njihovih derivata.[1]

### 2.1.1. Kemija kumarina

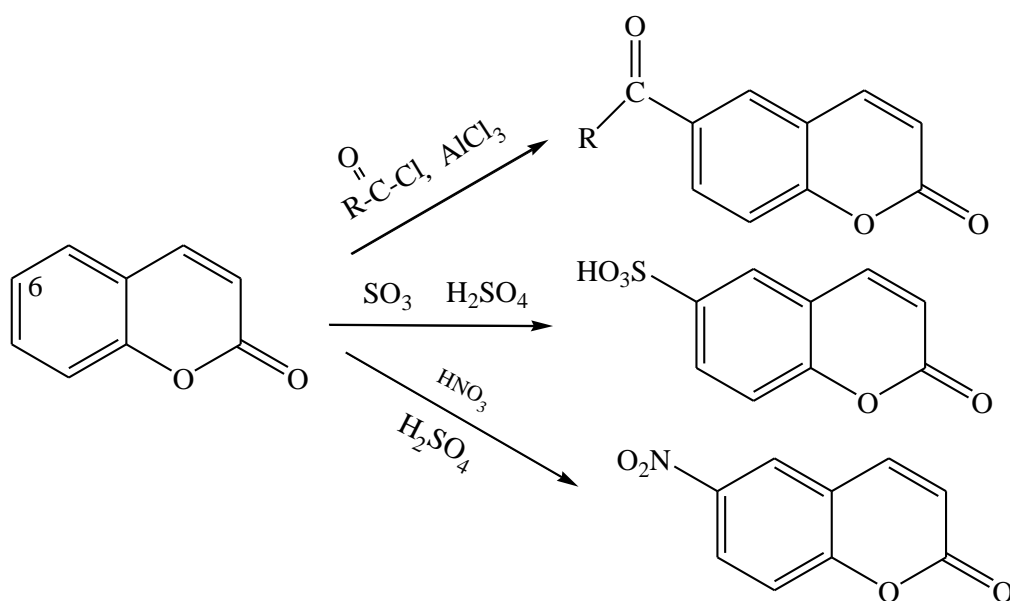
#### 2.1.1.1. Reaktivnost kumarina

Kumarini i njihovi derivati su jedni od najvažnijih koagulanasa. Kumarini su netopljivi u vodi, međutim hidroksilna skupina na 4-hidroksikumarinu prenosi slabo kisela svojstva molekuli koja ga čini topljivom u blago alkalnim uvjetima (Shema 2.).[1]



Shema 2. 4-hidroksikumarin u blago alkalnim uvjetima

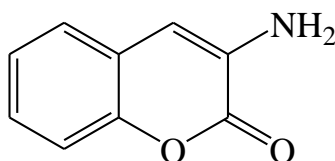
Zbog alifatske skupine na kumarinima i njihovim derivatima može doći do otvaranja prstena na acilnom centru.[2] Elektrofilna supstitucija i povezivanje se može dogoditi na bilo kojem od šest dostupnih položaja molekule kumarina. Prilikom supstitucije i povezivanja, javlja se mogućnost i permutacije što objašnjava prirodno nastajanje derivata kumarina.[4] Elektrofilna supstitucija (nitriranje, sulfoniranje, aciliranje) kod kumarina se uvijek događa na položaju C-6 na aromatskom prstenu (Shema 3.).[18]



Shema 3. Elektrofilna supstitucija (nitriranje, sulfoniranje i Friedel-Crafts-ovo aciliranje) na kumarinu

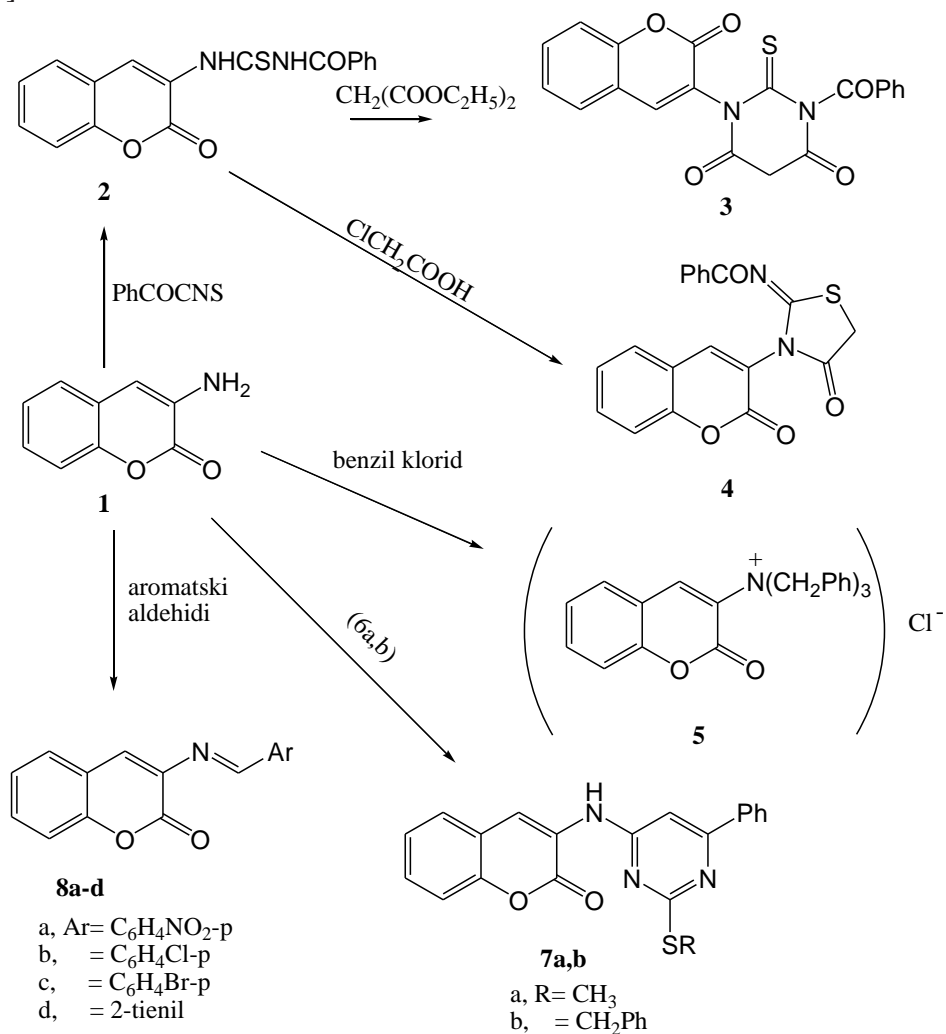
#### 2.1.1.2. Reakcije derivata kumarina

Kumarini i njihovi derivati predstavljaju jedan od najaktivnijih spojeva koji posjeduju široki spektar biološke aktivnosti. Mnogi od ovih spojeva pokazali su antitumorska, antibakterijska i antikoagulativna svojstva. Pored toga, ovi spojevi se koriste kao aditivi u prehrani i kozmetici. 3-aminokumarini (Slika 4.) pokazuju antimikrobno djelovanje te se smatra da bi se upravo iz takvog supstituiranog kumarina mogli razviti i brojni drugi djelotvorni kumarini.[10]



Slika 4. Struktura 3-aminokumarina

Reakcijom 3-amino-kumarina (**1**) s benzoil-izotiocijanatom nastaje 3-(3'-kumarinil)-*N*-benzoil tiourea (**2**). Spoj **2** se ciklizira u 2-tio-1,3,5-trihidropirimidin-4,6-dion (**3**) ili u tiazolidin-4-on (**4**). Alkiliranjem spoja **1** uz suvišak benzil-klorida nastaje *N,N,N*-tribenzil-(kumarin-3-il) amonij-klorid (**5**). Također, reakcijom spoja **1** s 2-alkiltio-4-klor-6-fenil pirimidinom (**6a,b**) nastaje 3-[(2-alkiltio-6-fenilpirimidin-4-il)amino]-2*H*-benzopiran-2-on (**7a,b**). Kondenzacijom spoja **1** s aromatskim aldehidom kao produkt nastaje Shiffova baza (**8a-d**) (Shema 4.). [10]



Shema 4. Priprava derivata 3-aminokumarina

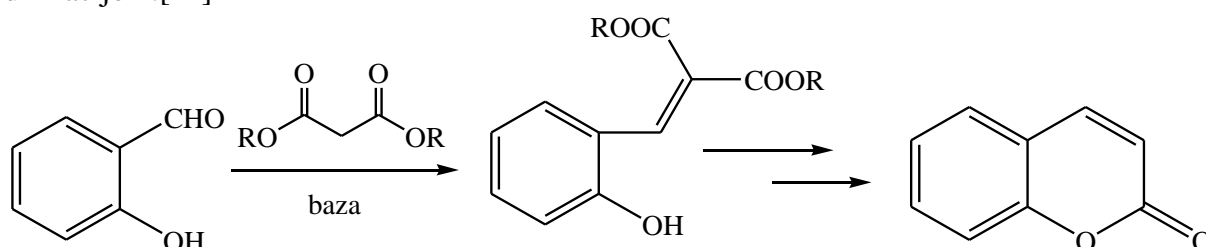
Kumarini i njihovi derivati mogu se sintetizirati različitim metodama poput Pechmannove reakcije, Perkinove reakcije, Reformatskyj reakcije i Knoevenagelove reakcije.

### 2.1.2. Sinteza kumarina

Kumarinski prsten klasično se sintetizira Perkin-ovom, Pechmann-ovom i Knoevenagel-ovom reakcijom.[11]

#### 2.1.2.1. Knoevenagel-ova reakcija

Knoevenagel-ova reakcija je reakcija kondenzacije aldehida s aktivnim metilenskim spojevima uz prisutnost amonijaka ili amina (Shema 5.). Kao katalizatori se koriste slabe baze ili kombinacija amina i karbonilne ili Lewisove kiseline u homogenim uvjetima. Upotrebnom malonske kiseline i piridina, sa ili bez tragova piperidina, reakcija se naziva Doebner-ovom modifikacijom.[11]

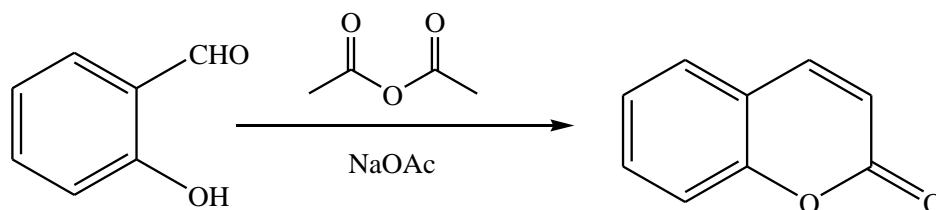


Shema 5. Knoevenagel-ova reakcija

Primjenom ove metode sintetiziran je veliki broj kumarina primjerice kumarin-3-karboksilne kiseline, amino- i alkilamino-kumarini, 3-acetilkumarini, krunasti etera 3-benzoilkumarina i novi premošteni heterocikli povezani s kumarinima.[11]

#### 2.1.2.2. Perkin-ova reakcija

Perkin-ova reakcija se temelji na sintezi kumarina aldolnom kondenzacijom aromatskog *o*-hidroksibenzaldehida i anhidrida octene kiseline u prisutnosti natrijeva acetata (Shema 6.).[11]

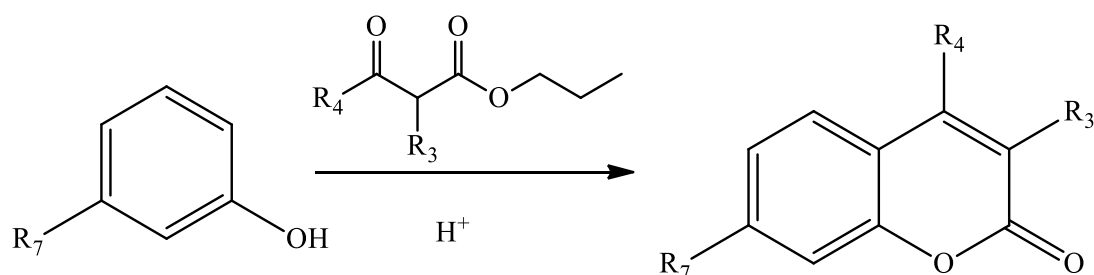


Shema 6. Perkinova reakcija

Primjenom bezvodnog natrijeva fluorida kao katalizatora dolazi do poboljšanja klasične sinteze kumarina iz salicilaldehida i anhidrida octene kiseline. 3-Ariloksikumarini s različitim supstumentima mogu se pripremiti modificiranom Perkin-Oglialore-evom reakcijom, kondenzacijom odgovarajućih supstituiranih saliciladehida s natrijevim solima ariloksiocetenih kiselina.[11]

### 2.1.2.3. Pechmann-ova reakcija

Pechmann-ova reakcija se temelji na dobivanju kumarina kondenzacijom fenola s  $\beta$ -ketoesterima uz prisustvo kiselih katalizatora (Shema 7.). Ako se u reakciji koriste acetatni esteri i njihovi derivati, tada se reakcija često naziva i Pechmann-Duisbergov-om reakcijom.[11]



Shema 7. Pechmann-ova reakcija

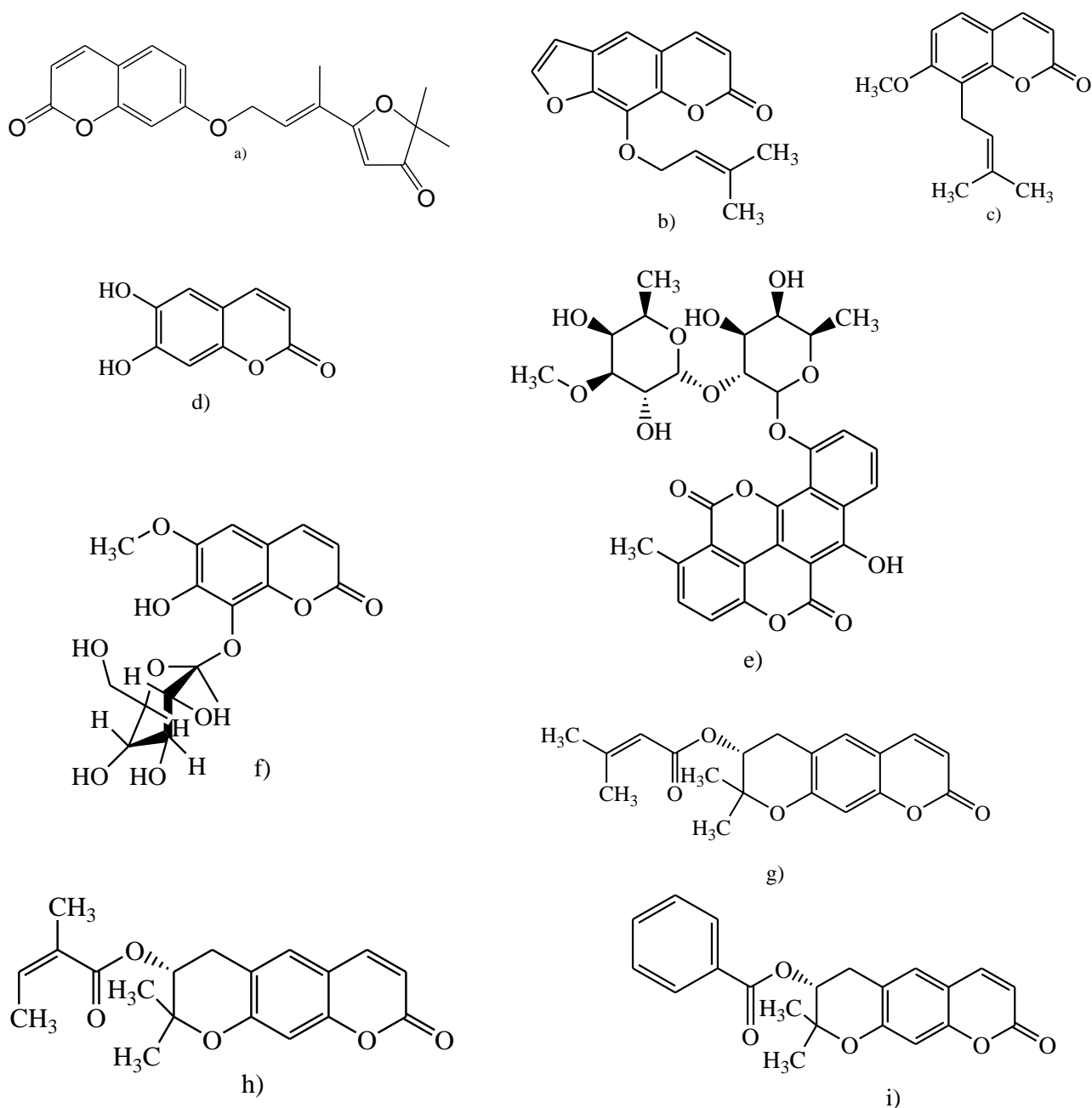
### 2.1.3. Biološka aktivnost kumarina i njegovih derivata

Derivati kumarina pokazuju brojne biološke aktivnosti. Djeluju inhibicijski na agregaciju krvnih pločica te imaju antikancerogena i antioksidativna svojstva. Ostale biološke aktivnosti su antikoagulacijska, protuupalna, antibakterijska, antigljivična, estrogena, dermalno fotosenzitirajuća, antimikrobna, vazodilatacijska također djeluju kao antihelmintici (najčešće u probavnom sustavu), sedativi i hipnotici, a pokazuju i analgetsko i hipotermičko djelovanje.[5]

#### 2.1.3.1. Antikancerogena aktivnost

U posljednje vrijeme maligne bolesti su postale velika opasnost za ljudsko zdravlje. Antikancerogena aktivnost je najvažnije svojstvo kumarina i njegovih derivata, iako mehanizam djelovanja nije još u potpunosti razjašnjen.[16] Kumarin i 7-hidroksikumarin inhibiraju proliferaciju mnogih humanih tumorskih staničnih linija *in vitro*. Kumarin i njegovi metaboliti pokazuju antitumorsku aktivnost na humanim tumorskim staničnim linijama želučanog karcinoma, raka prostate, malignog melanoma i metastatskog renalnog staničnog karcinoma.[5] Među kumarinima koji pokazuju antitumorsku aktivnost, najvažniji predstavnik je geiparvarin (Slika 5.a). Geiparvarin je prirodni kumarin izoliran iz lišća Geijera, poznat po svojoj *in vitro* cistostatskoj aktivnosti.[11] . Imperatorin (Slika 5.b) pokazuje antikancerogeno djelovanje, ostol (Slika 5.c) je učinkovit u inhibiranju migracije i invaziji stanica tumora dojke, eskuletin (Slika 5.d) pokazuje antitumorsku aktivnost i smanjuje toksičnost *N*-metil-D-aspartata primarnih neurona. Kartreusin (Slika 5.e) pokazuje antitumorsko djelovanje protiv leukemije i B16 melanoma. Fraksin (Slika 5.f) sprječava citotoksičnost induciranu vodikovim peroksidom. Grandivitin (Slika 5.g), agasilin (Slika 5.h), agelinol-benzoat (Slika 5.i) i ostol (Slika 5.c) pokazuju citotoksičnu aktivnost protiv stanične linije raka pluća A549.[3] Hidroksikumarini s nitro skupinom na aromatskom prstenu pokazali su selektivna antiproliferativna svojstva tako što pospješuju apoptozu karcinoma stanica bubrega putem proteina kinaze.[11] Navedeni lijekovi protiv tumora su djelotvorni, ali i citotoksični te stoga pokazuju nuspojave. Kumarini se također koriste za liječenje nuspojava uzrokovanih radioterapijom. Utvrđeno je da kumarin s trokserutinom štiti žlijezde slinovnice i sluznicu bolesnika tijekom radioterapije. [1]





Slika 5. Kumarini s antitumorskim djelovanjem: a) geiparvarin; b) imperatorin; c) ostol; d) eskuletin; e) kartreusin; f) fraksin; g) grandivitin; h) agasilin; i) agelinol-benzoat

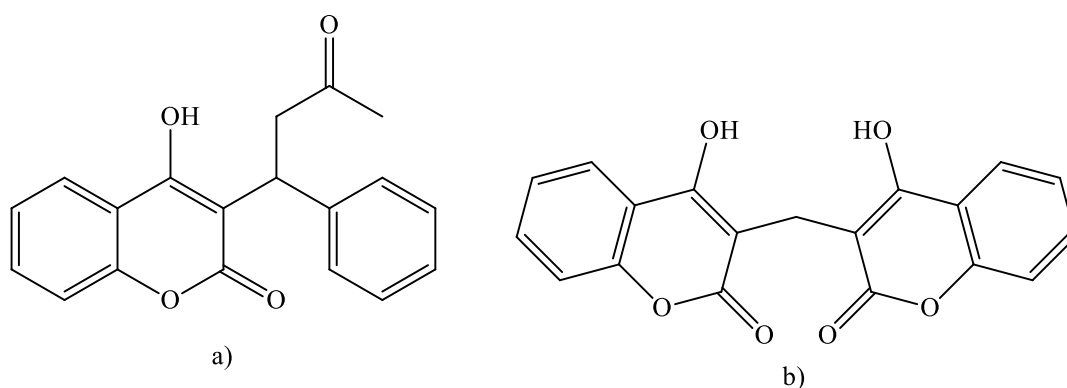
### 2.1.3.2. Antioksidativna aktivnost

Istraživanja su pokazala da kumarini s fenolnim hidroksilnim skupinama imaju veliku sposobnost hvatanja i stvaranja slobodnih kisikovih radikala (ROS) i dušikovih spojeva (RNS). Zbog svojih antioksidativnih svjostava koriste se kao inhibitori ciklooksigenaze i lipoksigenaze u upalnom ciklusu.[5] Fraksin i eskuletin su jedni od važnijih spojeva koji pokazuju antioksidativnu aktivnost. Fraksin pokazuje zaštitno djelovanje stanica protiv  $H_2O_2$

dok eskuletin i 4-metileskuletin sinergički djeluju s  $\alpha$ -tokoferolom u obrani od citotoksičnosti izazvane hidroperoksidom linoleinske kiseline, pri čemu važnu ulogu ima *orto* kateholna skupina na kumarinu.[3,4]

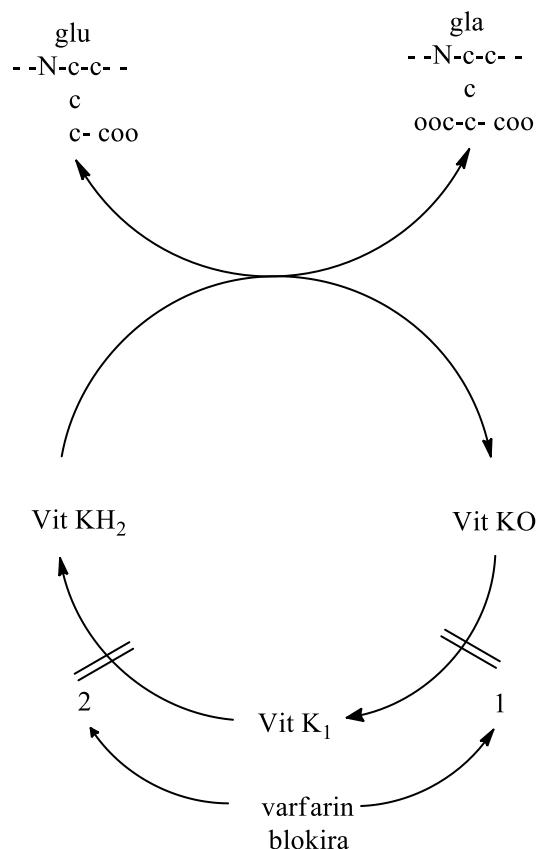
### 2.1.3.3. Antikoagulacijska aktivnost

Varfarin i dikumarol (Slika 6a i b) koji su pronađeni u slatkoj djetelini su antagonisti vitamina K. Vitamin K je važan kofaktor u  $\gamma$ -karboksilaciji *N*-terminalnog kraja vitamina K-ovisnih koagulacijskih proteina.[3]



Slika 6. Struktura varfarina (a) i dikumarola (b)

Kumarini inhibiraju ciklus pretvorbe vitamina K čime stvaraju jetrene produkte djelomično karboksiliranih i dekarboksiliranih proteina sa smanjenom prokoagulacijskom aktivnošću. Da bi se reakcija karboksiliranja vitamin K-ovisnih proteina odvijala potreban je reducirani oblik vitamina K (vitamin  $KH_2$ ), molekularni kisik i ugljikov dioksid. Vitamin  $KH_2$  reakcijom oksidacije prelazi u epoksid vitamina K koji reduktazom ponovno prelazi u vitamin  $KH_2$ . Reakcija redukcije se odvija u dva koraka. Prvi, koji je osjetljiviji na varfarin, reducira epoksidni vitamin K u vitamin  $K_1$ , dok drugi, relativno neosjetljiv na varfarin, reducira vitamin  $K_1$  u vitamin  $KH_2$  (shema 8.). Liječenje varfarinom dovodi do smanjenja količine vitamina  $KH_2$  što uzrokuje smanjenje  $\gamma$ -karboksilacije vitamina K-ovisnih koagulacijskih proteina.[3]



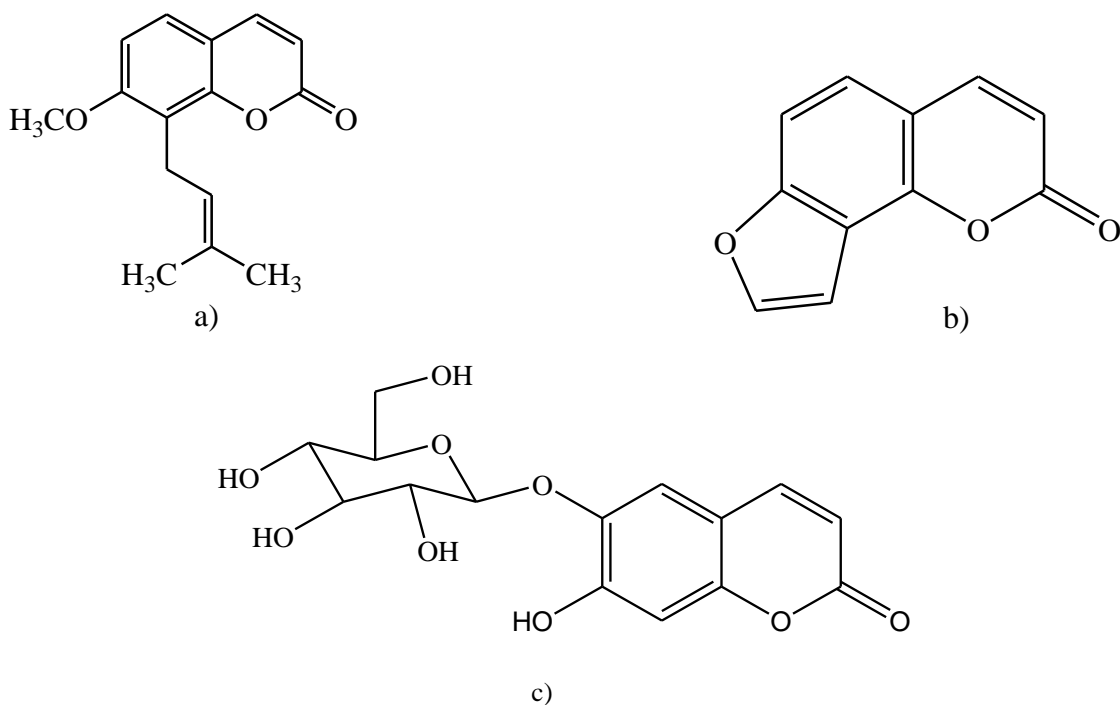
1. KO reduktaza- osjetljiva na varfarin
2. K reduktaza- relativno rezistentna na varfarin

Shema 8. Djelovanje varfarina kao antikoagulansa

#### 2.1.3.4. Ostale biološke aktivnosti

Kumarini pokazuju protuupalno djelovanje jer imaju sposobnost aktivacije makrofaga. Osobito se kumarin dobrim pokazao u smanjenju otekline nakon različitih trauma i bolesti, kod ljudi i životinja. Također, kumarini koji sadrže hidrofobne skupine pokazuju značajnu antivirusnu aktivnost prema HIV-u dok kumarin 5,7,4'-trihidroksi-4-stirilkumarin djeluje protiv *Herpes simplex* virusa. Spojevi kao što su furanokumarini se primjenjuju u fotokemoterapeutskim tretmanima za kožne bolesti, limfome i autoimune poremećaje. Pojedini kumarini imaju farmakološka svojstva te su se pokazali djelotvornim u liječenju depresije, a također su korisni u liječenju multiple skleroze blokirajući kalijeve kanale. Prirodni i sintetski kumarini su inhibitori kolinesteraze, što bi se moglo primijeniti u liječenju Parkinsonove i Alzheimerove bolesti. Kumarini također smanjuju razinu glukoze u krvi. Ostol (Slika 7 a.) inhibira agregaciju krvnih pločica, dok klorikromen (sintetski kumarin) inhibira agregaciju *in vivo* i *in vitro*, i izaziva vazodilataciju. Ostol sprječava progresiju hepatitisa C u hepatokarcinomu kod ljudi, a derivati ostola koji pokazuju topljivost u vodi veću nego sam ostol su nedavno predloženi za upotrebu kao hepatoprotektivni lijekovi. Angelicin (Slika 7 b.)

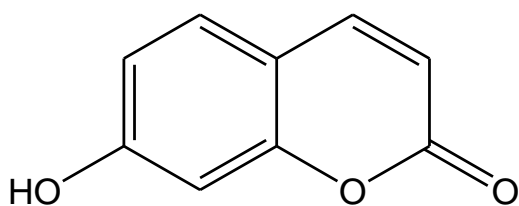
pokazuje protuupalna, antipiretička (za smanjenje tjelesne temperature) i citotoksična svojstva na humane KB stanične linije i antifugalna djelovanja. Eskulin (Slika 7 c.) je derivat kumarina koji se koristi u medicini, kao komponenta lijeka Proctosedyla, za tretiranje hemoroida i rektalnih lezija .[5]



Slika 7. Struktura a) ostola ; b) angelicina i c) eskulina

#### 2.1.4. 7-hidroksikumarin

Kumarini se dijele na jednostavne kumarine, furanokumarine, piranokumarine i pironski-supstituirane kumarine. Jednostavni kumarini, među koje pripada 7-hidroksikumarin (Slika 8.) su hidroksilirani, alkoksilirani ili alkilirani derivati kumarinskog prstena, uključujući njegove glikozide.[1]

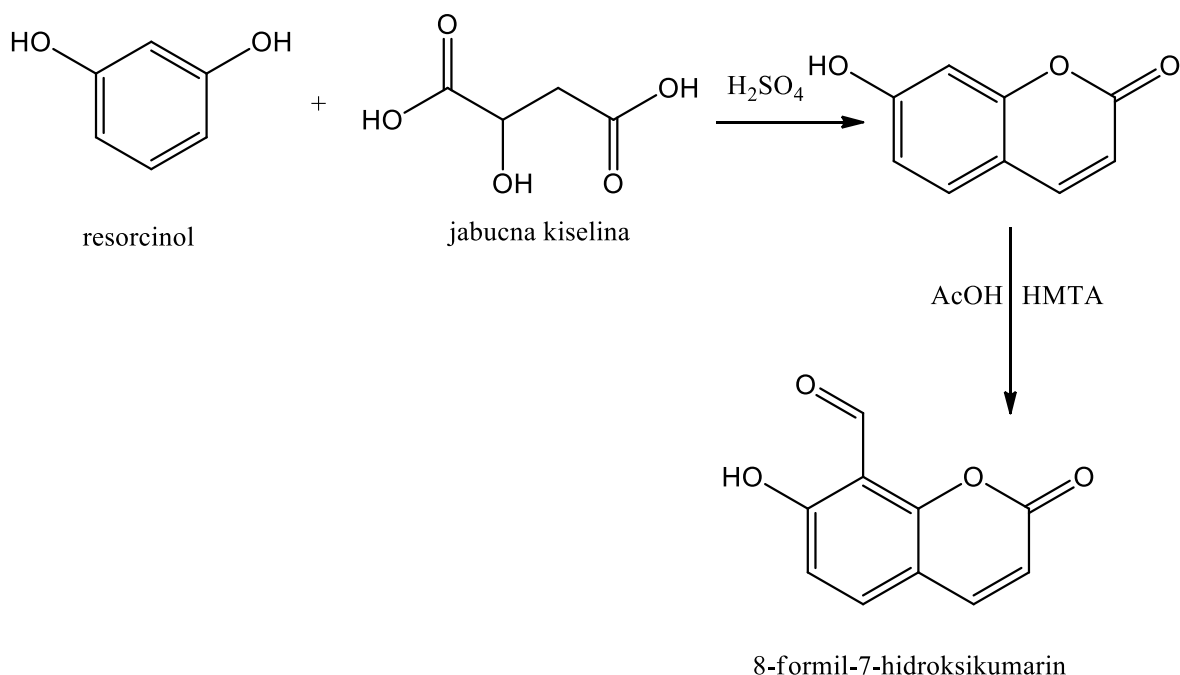


Slika 8. Struktura 7-hidroksikumarina

Kumarini i 7-hidroksikumarini imaju veliki značaj kao prirodni mirisi. Imaju karakterističan miris po vaniliji ili svježe pokošenoj travi. Hidroksilna skupina na položaju 7 važna je u biosintezi.[12]

#### 2.1.4.1. Sinteza 7-hidroksikumarina

7-hidroksikumarini sintetiziraju se Pechmann-ovom ciklizacijom primjenom različito supstituiranih rezorcinola upotrebom perklorne kiseline kao sredstva za kondenzaciju (Shema 9). Sinteza 7-hidroksikumarina uključuje nukleofilni napad na aktivirani aromatski prsten.[13] Derivati 7-hidroksikumarina su analizirani analitičkim i spektroskopskim metodama.[14]

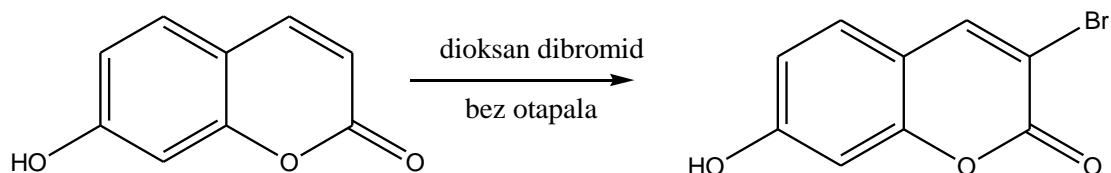


Shema 9. Sinteza 7-hidroksikumarina

Sulfatna kiselina ili perklorna kiselina katalizira Pechmann-ovu reakciju, koja je ključna metoda za dobivanje 4 supstituiranih kumarina. Knoevenagel-ova, Wittig-ova i Perkin-ova reakcija također se primjenjuju, međutim razlika između ovih reakcija se temelji u primjeni različitih reaktanata. U Knoevenagel-ovoj, Wittig-ovoj i Perkin-ovoj reakciji kao reaktanti se koriste salicilaldehidi i  $\beta$ -ketoestri, derivati trifenilfosfina ili anhidridi dok se u Pechmann-ovoj reakciji kao reaktanti koriste supstituirani fenoli i  $\beta$ -ketoestri.

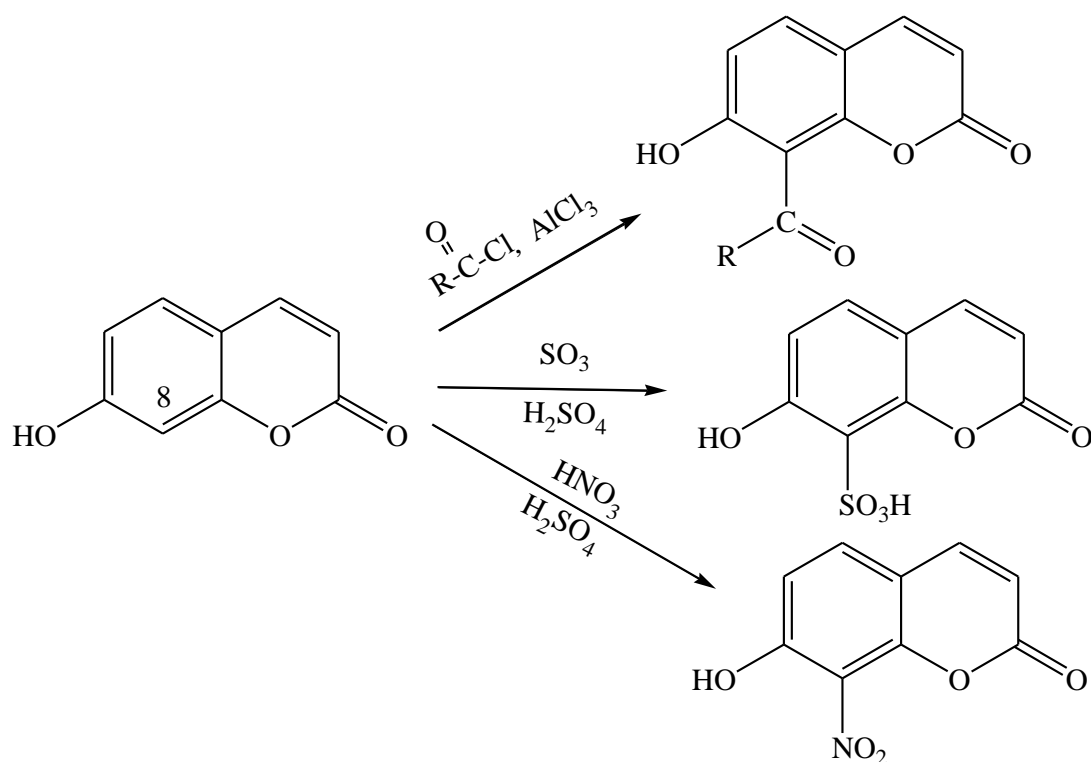
Usporedba sumporne i perklorne kiseline u Pechamannovoj reakciji pokazala je da je perklorna kiselina praktičnija za korištenje jer ne dovodi do zagrijavanja reakcijske smjese za razliku od sumporne kiseline, pri čemu dolazi do smanjenja sporednih reakcija te utječe na vrijeme i iskorištenje reakcije. Kao katalizator se može koristiti i  $\text{ZnCl}_2$ , a kao otapalo dioksan. Reakcija se provodi zbog prisutnosti katalizatora u suhim uvjetima i pri sobnoj temperaturi.[14]

U reakcijama kao što su bromiranje i merkuriranje, do elektrofilne adicije dolazi na dvostrukoj vezi između C-3 i C-4 položaja pri čemu kod 7-hidroksikumarina nastaje 3-brom-7-hidroksikumarin (Shema 10).[19] 7-hidroksikumarini su podložni supstituciji na C-8 položaju, a ako je taj položaj zauzet supstitucija se odvija na C-6 položaju.[18]



Shema 10. Bromiranje 7-hidroksikumarina

Kao i kumarini, 7-hidroksikumarini podložni su reakcijama elektrofilne supstitucije na položaju C-8 (Shema 11).[18]



Shema 11. Elektrofilna supstitucija (nitriranje, sulfoniranje i Friedel-Crafts-ovo aciliranje)

7-hidroksikumarina

#### 2.1.4.2. Biološko djelovanje 7-hidroksikumarina

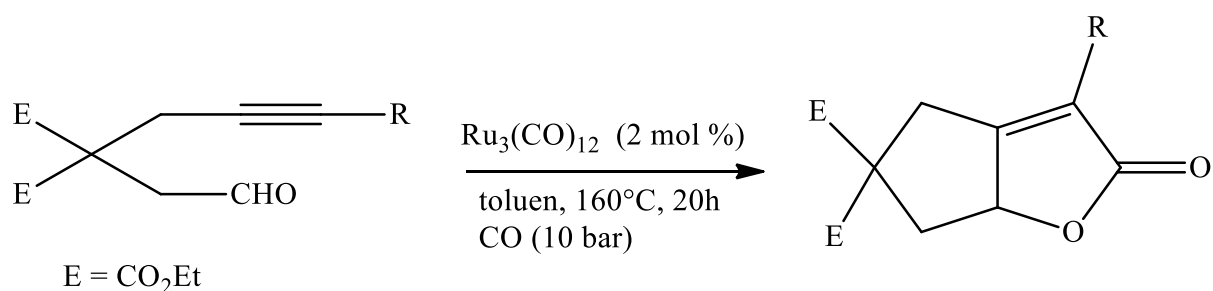
Kumarin se u biološkim sustavima metabolizira do 7-hidroksikumarina, pa tako i kod čovjeka.[14] Kumarini i 7-hidroksikumarini sprječavaju poliferaciju malignih krvih stanica *in vitro* i pokazuju antitumorska djelovanja.[12] Istraživanja 7-hidroksikumarina i njegovih derivata usmjerena su i na moguća protuupalna djelovanja. Budući da su 7-hidroksikumarini identificirani kao mogući protuupalni spojevi, njihovo proučavanje omogućuje i razvoj novih lijekova na bazi kumarina koji bi se mogli primijeniti u liječenju bolesti uzrokovanih upalom.[14] Antitumorska ispitivanja pokazala su da 7-hidroksikumarin djeluje protiv raka prostate, malignog melanoma te protiv karcinoma bubrežnih stanica.[12] Na temelju istraživanja koja se još provode, pretpostavlja se da primjena 7-hidroksikumarina smanjuje nuspojave u usporedbi s kumarinom.[6]

## 2.2. Domino reakcije

Glavni cilj organske kemije je sintetizirati spoj u što većem iskorištenju uz upotrebu što manje količine otapala, a jedna od mogućnosti za postizanje tog cilja je primjena domino reakcija.[17] Ova vrsta reakcija izuzetno je zanimljiva kemičarima jer pruža i uštede u smislu vremena, energije i troškova u odnosu na konvencionalnu sintezu. Domino reakcije dobile su ime po igri u kojoj se u jedan niz postavlja nekoliko domino slagalica, rušenje jedne slagalice izaziva rušenje svih ostalih, odnosno u domino reakcijama nastajanje jednog spoja izaziva naredne kemijske reakcije bez promjene reakcijskih uvjeta. Za ovu reakciju se također koristi i termin kaskadne reakcije, međutim termin domino je prihvatljiviji jer opisuje stvarno značenje reakcije.[7] Domino reakcije pružaju mogućnost sinteze složenih spojeva uvođenjem različitih supstituenata tijekom reakcije [8] i pomoću njih se lako mogu dobiti složeni spojevi polazeći od jednostavnih reaktanata.[17] Korisnost domino reakcija se temelji na broju veza koje nastaju u jednom nizu, potom u povećanju strukturne složenosti te na njihovoj prikladnosti za opću primjenu.[7] Jedan istaknuti primjer domino reakcije je Knoevenagel/hetero Diels-Alderova reakcija u kojoj se dihidropiran izravno sintetizira iz lako dostupnih reaktanata. Katalizatori prijelaznih metala igraju važnu ulogu u modernoj kemiji, a također i u domino reakcijama gdje katalizator, primjerice paladij, ukazuje na vrijednost prijelaznih metala u stvaranju kemijskih veza.[17] Uobičajeno pročišćavanje produkata nastalih domino reakcijama je jednostavno budući da se svi organski reagensi i katalizatori potroše.[8]

Jedan od primjera domino reakcije je reakcija karboksiliranja koja je važna u industrijskim i znanstvenim istraživanjima. U ovim se reakcijama, ugljikov monoksid (CO) koristi kao najjeftiniji izvor jednog ugljikovog atoma (C1). Uvođenjem ugljikova monoksida u reakcijsku smjesu, stvara se mogućnost nastajanja karbonila koji se dalje modificira u druge spojeve važne u organskoj sintezi. Reakcija karboksiliranja pripada domino reakcijama u kojima najmanje dvije C-C veze nastaju pod istim uvjetima (Shema 12).[17]





Shema 12. Primjer domino reakcije

### 2.2.1. Podjela domino reakcija

U posljednjih nekoliko godina razvijene su brojne domino reakcije, te su podijeljene u nekoliko vrsta, što omogućuje bolje razumijevanje domino reakcija, ali također olakšava i otkrića novih domino reakcija. Prema mehanizmu u prvom koraku, razlikujemo kationske, anionske, radikalske, fotokemijske i katalizirane prijelaznim metalima, koje mogu biti kombinirane s reakcijama u drugom, trećem ili četvrtom koraku.

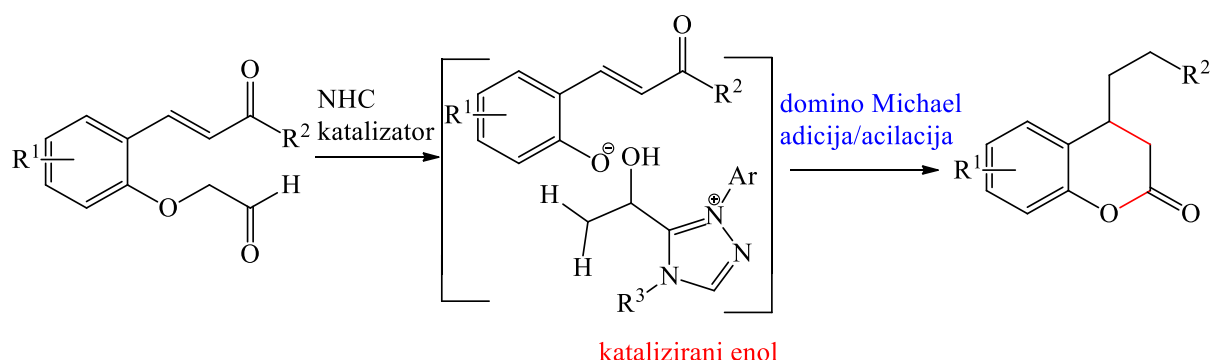
Tablica 1. Grafički prikaz podjele domino reakcija ovisno o mehanizmu u 3 različita koraka

1. korak	2. korak	3. korak
<b>1a</b> kation	<b>2a</b> kation	<b>3a</b> kation
<b>1b</b> anion	<b>2b</b> anion	<b>3b</b> anion
<b>1c</b> radikal	<b>2c</b> radikal	<b>3c</b> radikal
<b>1d</b> pericikličke	<b>2d</b> pericikličke	<b>3d</b> pericikličke
<b>1e</b> fotokemijski	<b>2e</b> fotokemijski	<b>3e</b> fotokemijski
<b>1f</b> karbinoid	<b>2f</b> karbinoid	<b>3f</b> karbinoid
<b>1g</b> prijelazni metal	<b>2g</b> katalizirana reakcija	<b>3g</b> prijelazni metal
<b>1h</b> oksidacija/redukcija	<b>2h</b> oksidacija/redukcija	<b>3h</b> oksidacija/redukcija

Čest primjer homo-domino reakcija su kation-kation (1a/2a), anion-anion (1b/2b), radikal-radikal (1c/2c), pericikličke-pericikličke (1d/2d) i prijelaznim metalima katalizirane reakcije (1g/2g) koje su ujedno i najčešće provedene reakcije. Važne su također i hetero-domino reakcije poput anion-pericikličkih (1b/2d) ili anion-pericikličkih-pericikličkih reakcija (1b/2d/3d).[7]

### 2.2.2. Domino reakcije u sintezi kumarinskih derivata

Domino Michael-ovom reakcijom aciliranja kataliziranom *N*-heterocikličkim karbenom (NHC) nastaju 3,4-dihidroksikumarini. Reakcija se provodi dodavanjem NHC-a ariloksaldehidu pri čemu eliminacijom iz enolnog intermedijera izlazi fenoksid kao odlazeća skupina. Nastali nukleofil nastao *in situ* uzrokuje 1,4-adiciju na konjugirani akceptor. Nakon aciliranja fenoksid-aniona dolazi do regeneriranja katalizatora karbena što rezultira nastajanjem 3,4-dihidroksikumarina (Shema 13).[20]

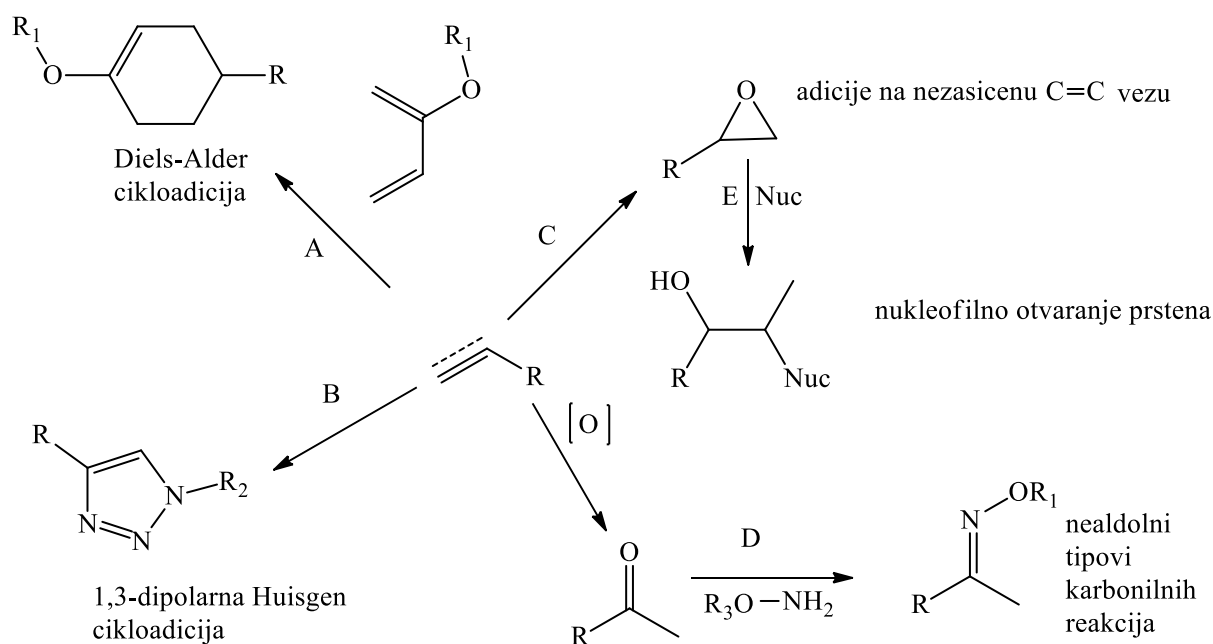


Shema 13. Domino Michael-ova reakcija

### 2.3. "Click" reakcije

U posljednjih nekoliko godina, sve se više primjenjuju brze reakcije koje ispunjavaju tri glavna kriterija idealne sinteze: učinkovitost, svestranost i selektivnost. Takva brza sintetska strategija omogućava sintetskim kemičarima veliki broj potencijalno biološki aktivnih spojeva u vrlo kratkom vremenu te ubrzanje procesa otkrivanja i optimiranja struktura. Pojam "click" kemije u početku je bio uveden da bi promovirao novi pristup u

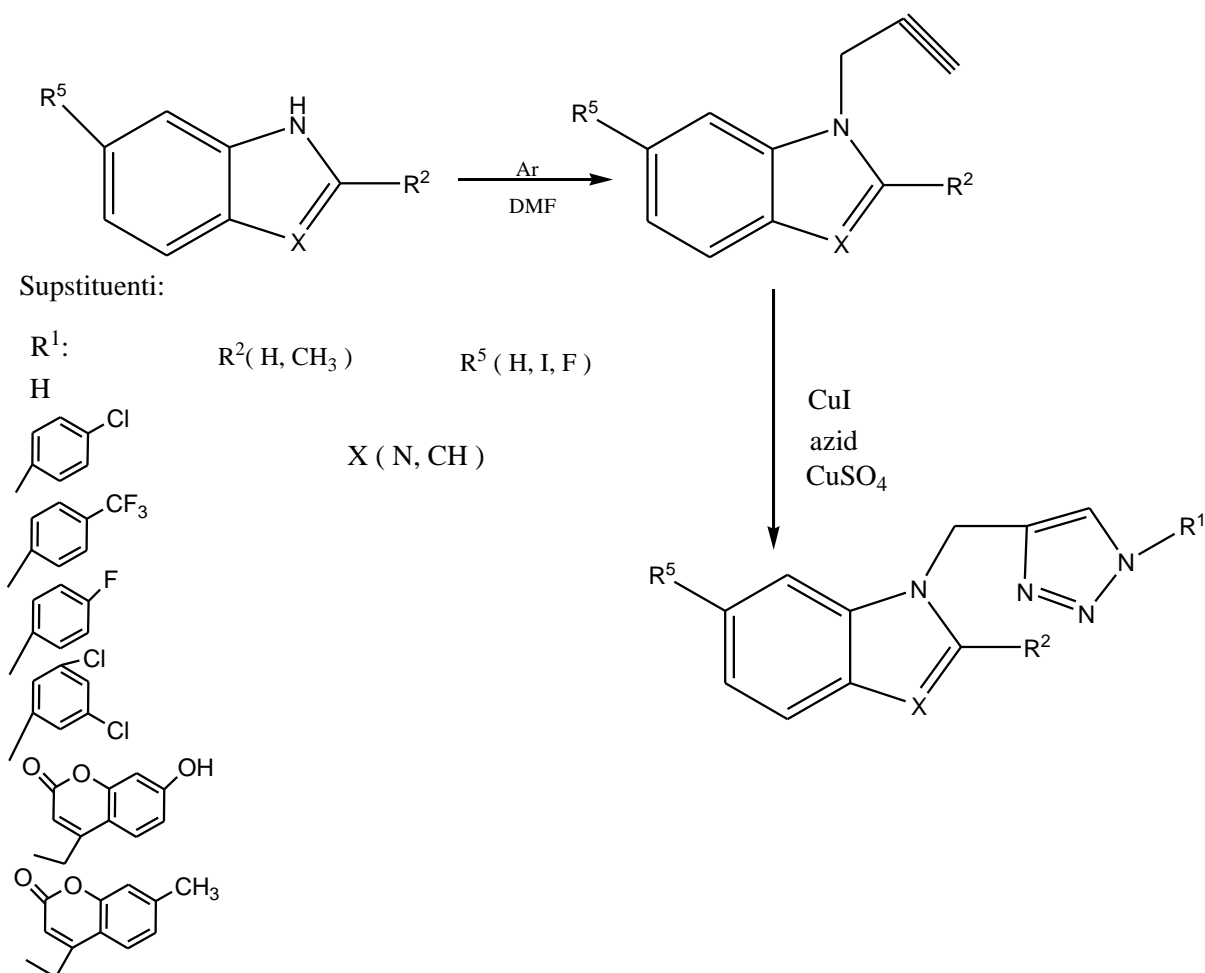
razvoju lijekova. Kolb, Finn i Sharpless predstavili su skup zahtjeva koje reakcija mora ispuniti da bi se mogla klasificirati kao tzv "click" reakcija. "Click" kemija opisuje niz jednostavnih, efikasnih i selektivnih kemijskih transformacija koje dovode do jednog produkta. Sveobuhvatni cilj bio je potaknuti sintetske kemičare da se manje fokusiraju na izazov stvaranja novih ugljik-ugljik veza na putu sinteze složenih prirodnih produkata već da usmjere svoju energiju u stvaranje hetero-atom-ugljik veza, s obzirom na to da ogroman broj potencijalnih kandidata za lijekove i postojeći lijekovi sadrže u svojoj strukturi hetero-atomske. Da bi se neka reakcija smatrala „click“ reakcijom, ona mora imati jednostavnu izvedbu, blage reakcijske uvijete, mora biti stereoselektivna, davati visoka iskorištenja, reagensi moraju biti lako dostupni, korištena otapala neštetna za okoliš ili primijenjeni uvjeti bez otapala te jednostavna izolaciju produkta.[21] Na temelju tih zahtjeva, nekoliko poznatih vrsta reakcija su klasificirane kao "click" reakcije (Slika 14). One uključuju cikloadicije nezasićenih vrsta (Diels-Alder cikloadicija i 1,3-dipolarna cikloadicija, Slika 14 A i B), adicije na nezasićene C=C veze, (oksidativno nastajanje epoksida), nealdolni tipovi karbonilnih reakcija između eposida i aziridina (Slika 14).[22]



Shema 14. Vrste "click" reakcija

### 2.3.1. "Click" reakcije u sintezi derivata kumarina

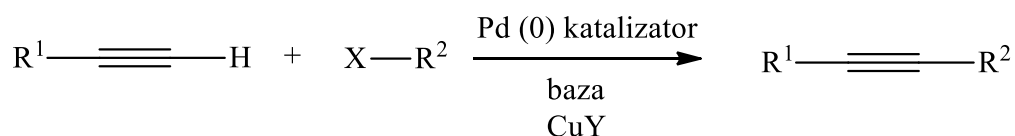
Novi pristup u organskoj sintezi je molekulska hibridizacija a temeljen je na kombinaciji farmakoloških djelova različitih spojeva koji se koriste za sintezu nove hibridne molekule s poboljšanim biološkim svojstvima. Tako su primjerice triazoli i benzenski heterociklički spojevi s dušik/sumpor supstytutentima hibridizirani u jednu molekulsku strukturu koja ima selektivnu antimikrobnu aktivnost. 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol pripravljen je 1,3-dipolarnom cikloadicijskom reakcijom terminalnog alkina s azidom upotrebom bakra kao katalizatora. Razni aromatski azidi supstituirani halogenima potrebni za dobivanje 1,2,3-triazola sintetizirani su iz odgovarajućih arilamina. Reakcije su provedene pod utjecajem mikrovalnog zračenja uz iskorištenje reakcije od 70-80% (shema 15.).[27]



Shema 15. Primjer "click" reakcije

## 2.4. Sonogashira-ina reakcija

Sonogashira-ina reakcija (shema 16) koju je otkrio japanski znanstvenik Kenkichi Sonogashira 1975. godine nalazi primjenu u sintezi antimikrobnih, antitumorskih spojeva, tekućih kirstala, polimera i otkrivanju novih optičkih i elektroničkih materijala.[24] Reakcija se odvija između terminalnog alkina i alkil-halogenida uz Pd kao katalizator i Cu kao ko-katalizator, uz prisutnost baze, najčešće nekih organskih amina.



$\text{R}^1$  = aril, heteroaril, alkil

$\text{R}^2$  = aril, heteroaril, vinil

X = I, Br, Cl, OTf

Y = I, Br

Shema 16. Sonogashira-ina reakcija

Kao katalizator najčešće se upotrebljava tetrakis(trifenilfosfin)paladij(0)  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$  i CuI kao ko-katalizator, no koriste se i druge halogene soli bakra. Zagrijavanjem se poboljšava iskorištenje reakcije odnosno pogoduje stvaranju nove C-C veze. Važno je napomenuti da zbog upotrebe bakra(I) kao ko-katalizatora reakcijski uvjeti moraju biti bez prisutnosti zraka (u atmosferi Ar ili  $\text{N}_2$ ). Izlaganjem reakcije zraku dolazi samo do reakcije između alkina, a ne s alkil-halogenidom.[25] Tako je razvijena i Sonogashira-ina reakcija koja se provodi bez prisutnosti bakra uz piridolin.[26] Kako ove reakcije nalaze primjenu u području medicinske kemije i općenito se sve više upotrebljavaju zbog ekoloških razloga, razvijaju se Sonogashira-ine reakcije u kojima se ne upotrebljavaju organski amini kao baze.[25]

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Opće napomene

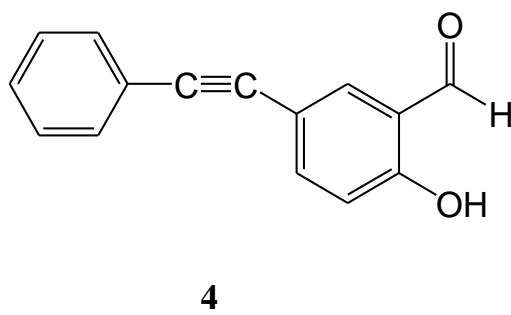
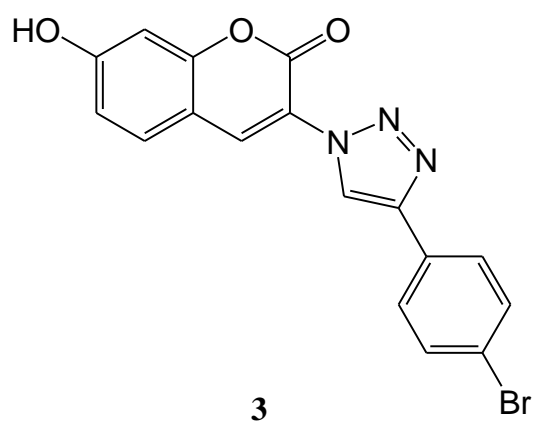
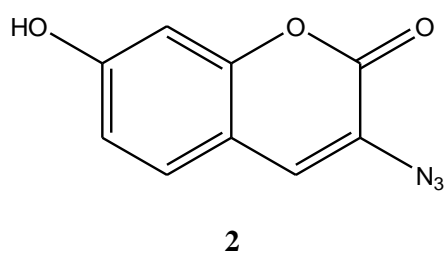
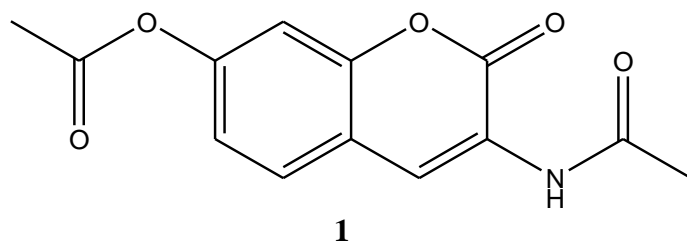
Sva korištena otapala sušena su i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å.

Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silikagela Merck u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenata korištena je UV-svjetlost valne duljine 254 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu *Fluka* (0.063-0.2 nm), a staklene kolone su punjene pod utjecajem gravitacije te je kao eluens korištena smjesa diklormetan/metanol u odgovarajućem omjeru ili čisti diklormetan.

Spektri  $^1\text{H}$  NMR su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 MHz. Svi su uzorci otopljeni u DMSO- $\text{d}_6$  i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci ( $\delta$ ) u  $^1\text{H}$  NMR spektrima izraženi su u jedinicama ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS,  $\delta=0,0$  ppm), a konstante sprege ( $J$ ) u hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije asignirane su na temelju njihovih kemijskih pomaka, inteziteta signala, multipliciteta signala i konstanti sprega H-H.

### 3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



### 3.3. Priprava spojeva

#### 3.3.1. 3-acetamido-2-okso-2*H*-kromen-7-il acetat (**1**)

Reakcijska smjesa 2,4-dihidroksibenzaldehida (2,76 g; 20 mmol), *N*-acetilglicina (2,34g , 20mmol) i natrijeva acetata (4,292g , 60mmol) refluksira se na temperaturi 140°-150°C u 100 mL anhidrida octene kiseline 4 sata. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC). Na dnu se istaloži talog, a reakcijska smjesa se izlije na led (300-400 mL). Nastali žuti talog se potom odfiltrira preko Büchnerovog lijevka i ispere se ledenom vodom, a filtrat stavi u frižider na hlađenje. Nastali talog u filtratu se odfiltrira i spoji s ranije odfiltriranim žutim talogom. Spojeni talozi se suše pri čemu je dobiven spoj **1** (910 mg, 17,3 %).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 9.76 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.13 (dd, *J* = 8.4, 2.2 Hz, 1H), 2.27 (d, *J* = 5.4 Hz, 3H), 2.17 (s, 3H).

#### 3.3.2. 3-azido-7-hidroksi-2*H*-kromen-2-on (**2**)

Spoj **1** (910 mg, 3,5 mmol) se refluksira u smjesi koncentrirane HCl i etanola (2:1, 30 mL) tijekom 1h (smjesa postane crvena kad se doda kiselina). Zatim se doda ledena voda (40 mL), da se otopina razrijedi. Smjesa se zatim ohladi u ledenoj kupelji i doda se NaNO<sub>2</sub> (2,76 g; 40 mmol). Reakcijska smjesa se potom miješa 5-10 min i doda se NaN<sub>3</sub> (3,9 g; 60 mmol) u obrocima. Nakon miješanja 15 min nastali talog se odfiltrira, ispere vodom i osuši pod sniženim tlakom pri čemu se izolira smeđa krutina spoja **2** (190,1 mg; 4,8%).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 10.53 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.48 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H).

#### 3.3.3. 7-hidroksi-3-(4-(*p*-brom-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2*H*-kromen-2-on (**3**)

Spoj **2** (190,1 mg, 0,94 mmol) stavi se u kvarcnu kivetu i otopi u 0,5 mL DMF-a i smjesi *tert*-butanol:voda (1:1) (4 mL). U otopinu se doda 1 M otopina bakrovog(II)sulfata (0,23 mL) (0,12 mL) i bakrena žica (47,6 mg, 0,75 mmol) te 4-promfenilacilen (135,5 mg, 0,75 mmol). Kvarcna kiveta stavi se u mikrovalni reaktor na 80°C tijekom 60 min uz 300 W sa prethodnih 5 min zagrijavanja te 10 min hlađenja na kraju. Tijek reakcije prati se TLC-om, a nakon



završetka reakcijska smjesa se upari i pročišćava kolonskom kromatografijom ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=50/1$ ). Izolira se spoj **3** (58 mg; 20,4%).

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  10.53 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.48 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 6.81 (dd,  $J = 8.5, 2.3$  Hz, 1H), 6.76 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H).

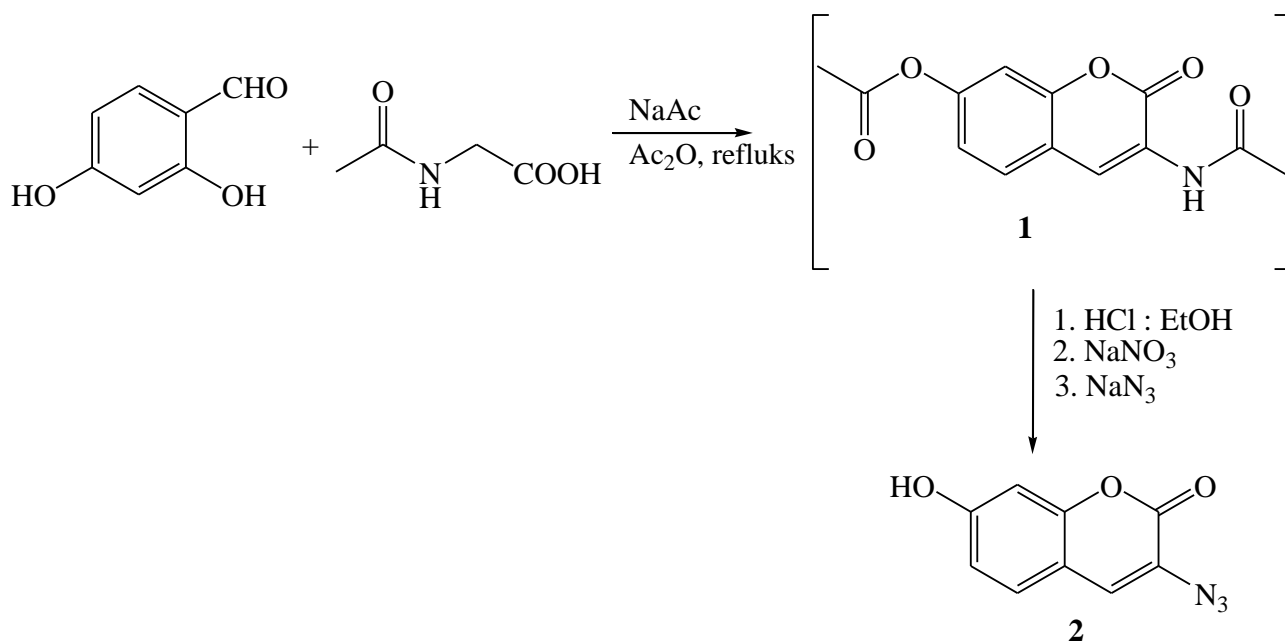
#### 3.3.4. 2-hidroksi-5-(feniletinil)-benzaldehyd (**4**)

Otopini 5-bromsalicilaldehida (200 mg, 1 mmol) u bezvodnom dimetilformamidu (10 mL) doda se diizopropiletilamin (0,2769 mL), fenilaceten (0,1639 mL), tetrakis(trifenilfosfin)paladij (114,9 mg, 0,1 mmol) i bakrov (I) jodid (37,9 mg, 0,2 mmol). Reakcijska smjesa se miješa preko noći na sobnoj temperaturi u struji dušika. Otapalo se zatim upari do suha i pročišćava kromatografijom na koloni (čisti  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Izolira se žuti uljasti spoj **4** (96 mg, 43,2 %)

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

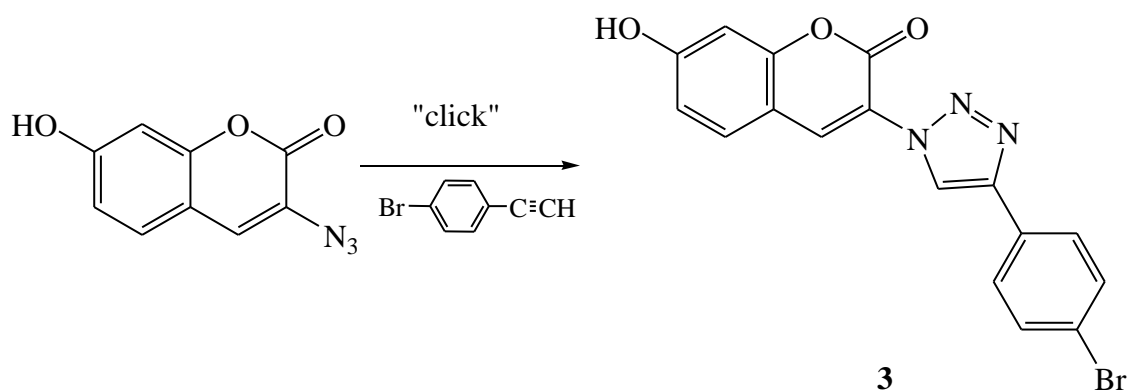
### 4.1. Sinteza spojeva

3-Azido-7-hidroksikumarin (**2**), ključni precursor za “click” reakciju, pripremljen je domino reakcijom polazeći iz 2,4-dihidroksibenzaldehida. Višestupnjevita sinteza (Shema 1.) bez izoliranja međuprodukata uključuje u prvom stupnju Perkinovu reakciju 2,4-dihidroksibenzaldehida s *N*-acetilglicinom u anhidridu octene kiseline pri čemu nastaje azlakton, koji podliježe enolizaciji te se nadalje aldolnom kondenzacijom azlaktonskog međuprodukta (nukleofila) i anhidrida (elektrofila) zatvara kumarinski prsten. Reakcija uključuje i reakciju dehidratacije alkohola nastalog aldolnom reakcijom, pri čemu nastaje 3-acetamido-7-*O*-acetilkumarin (**1**),  $\alpha,\beta$ -nezasićeni lakton. Reakcijom nastalog međuprodukta s klorovodičnom kiselinom dolazi do hidrolize acetilnih skupina na položajima 3 i 7 kumarina pri čemu nastaje 3,7-dihidroksikumarin. Hidrolizom amida u amin, nastali amin reagira s  $\text{NaNO}_2$  u kiselom mediju pri čemu reakcijom diazotacije nastaje diazonijeva sol. Potom reakcijom *in situ*  $\text{NaNO}_2$  i  $\text{HCl}$ -a dolazi do stvaranja dušične kiseline pri čemu se oslobađaju reaktivni  $\text{NO}^+$  ioni. Slobodni elektronski par na aminu omogućuje mu nukleofilni napad na stvorene  $\text{NO}^+$  ione uslijed čega nakon uspostavljanja kiselo-bazne ravnoteže nastaje diazonijeva sol stabilizirana rezonancijom. Naposljetku, reakcijom s  $\text{NaN}_3$  dolazi do nukleofilne supstitucije i nastajanja krajnjeg produkta, 3-azido-7-hidroksikumarina (**2**) (Shema 1.)



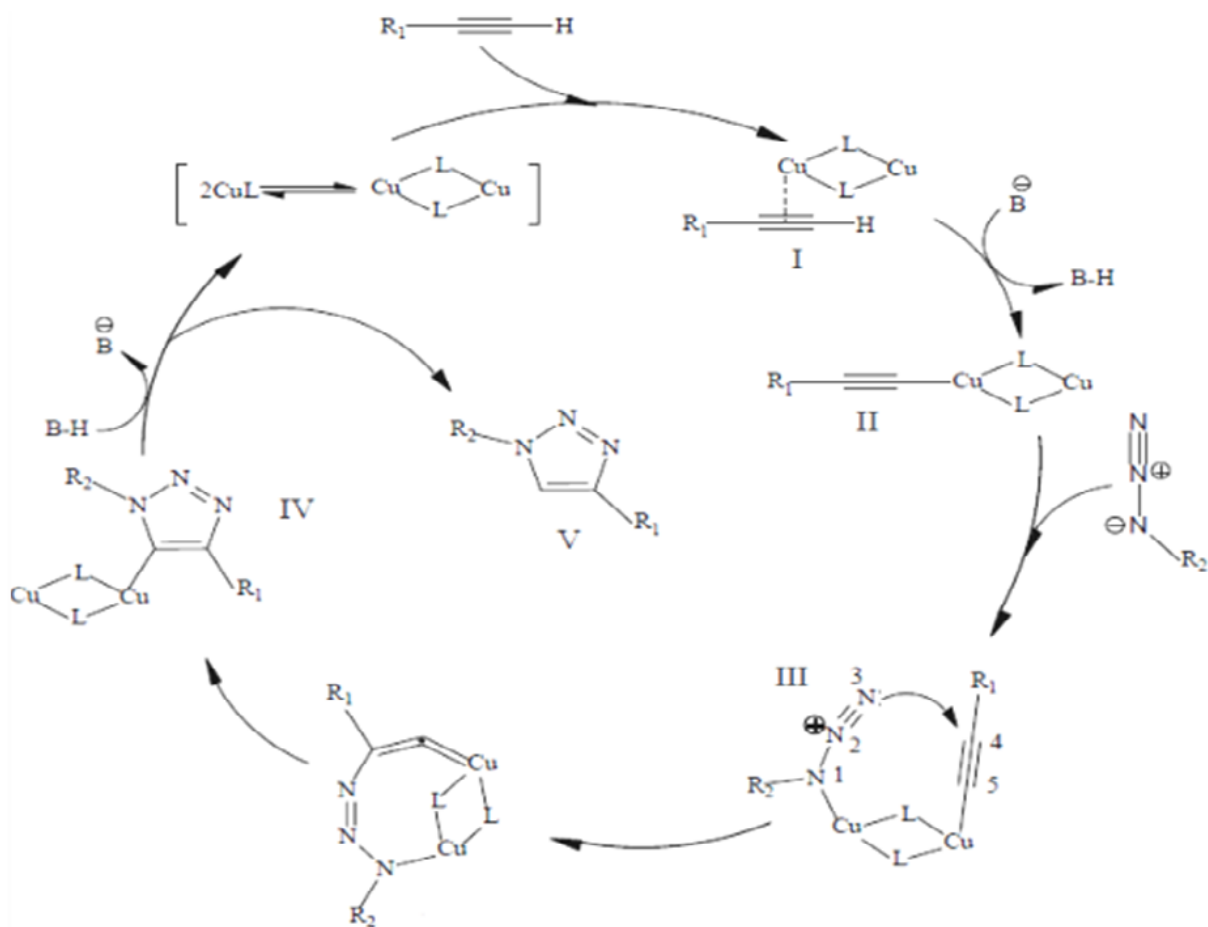
Shema 1. Sinteza 3-azido-7-hidroksikumarina (**2**)

"Click" reakcijom, tj. Huisgenovom 1,3-dipolarnom cikloadicijom kataliziranom bakrom (CuAAC) i potpomognutom mikrovalnim zračenjem 3-azido-7-hidroksikumarina (**2**) i 4-bromfenilacetilena pripravljen je 1,4-regioizomer 1,2,3-triazolnog derivata kumarina **3** (Shema 2.).



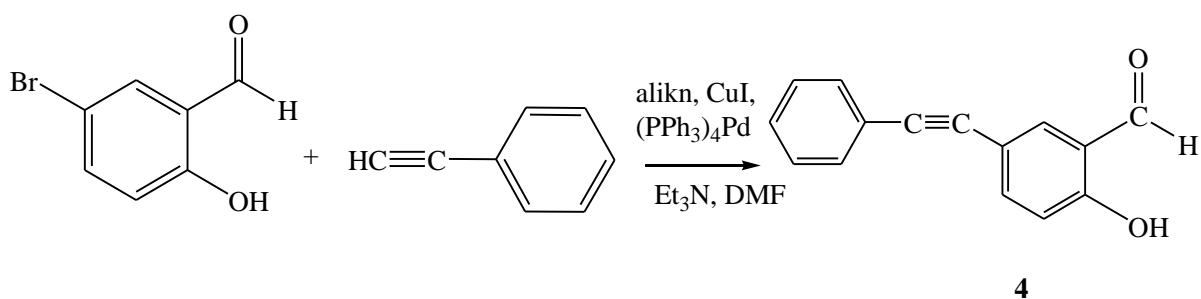
Shema 2. "Click" reakcija sinteze 1,2,3-triazolnog derivata kumarina **3**

Mehanizam CuAAC (*eng. Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition*) započinje reakcijom Cu(I) s trostrukom vezom terminalnog alkina pri čemu nastaje  $\pi$  kompleks, bakrov(I) acetilid koji snižava  $pK_a$  te na taj način olakšava uklanjanje terminalnog kiselog vodika s alkina i nastajanje međuprodukta (bakrov(I) acetilid) koji podliježe nukleofilnom napadu terminalnog N(3) azida na atom C(4) alkina što dovodi do stvaranja šesteročlane metalocikličke strukture čijom pregradnjom nastaje bakrov triazolid. Nakon protoniranja, Cu(I)-ligand kompleks disocira s triazolida i daje konačni produkt, 1,4-disubstituirani triazol, a oslobođeni katalizator-ligand kompleks se može ponovo upotrijebiti za iduću reakciju (Shema 3.).[27]



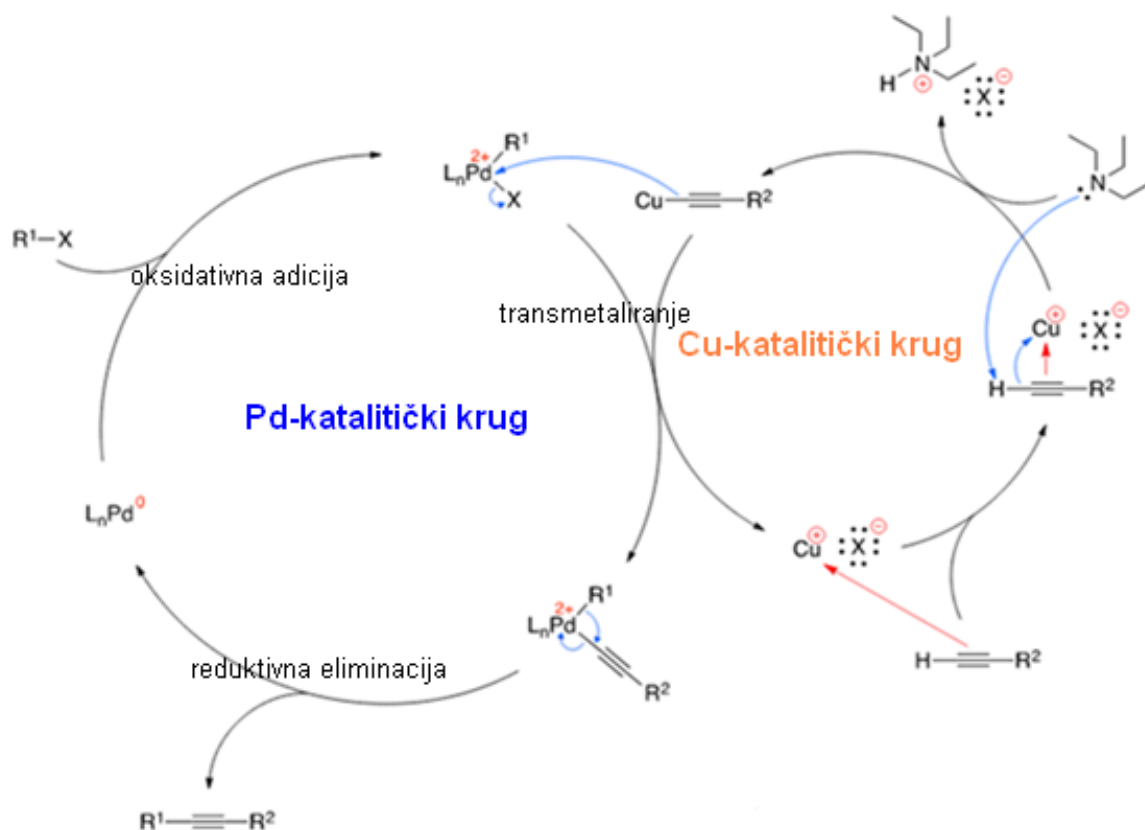
Shema 3. Mehanizam Huisgenove 1,3-dipolarne cikloadicije katalizirane bakrom

Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 5-brom-2-hidroksibenzaldehida i fenilacetilena u bezvodnom dimetilformamidu uz tetrakstrifenilfosfinpaladij  $(PPh_3)_4Pd$  kao katalizator, bakrov(I)jodid  $CuI$  kao kokatalizator,  $Et_3N$  kao bazu u DMF-u pripravljen je spoj **4** (shema 4).



Shema 4. Sonogashira-ina reakcija sinteze spoja **4**

Predloženi mehanizam Sonogashira-ine reakcije uključuje paladijev katalitički krug u kojem arilni halid oksidativnom adicijom prelazi u organometalni spoj kao produkt vezanja arila i halogenog elementa zasebno za atom paladija (shema 5). Istovremeno u bakrovom katalitičkom krugu dolazi do disocijacije bakrovog halogenida i nastajanja organometalnog spoja u kojem se bakar veže na alkin supstitucijom s terminalnim atomom vodika, koji se veže na višesupstituirani amin koji s halogenidom nastalim disocijacijom s bakrom, tvori kvaternu amonijevu sol. Reakcijom transmetaliranja ta dva organometalna spoja dolazi do otpuštanja halogena u arilnom, te bakra u alkinilnom spoju, uz regeneraciju bakrovog halogena u bakrovom katalitičkom krugu. U konačnom stupnju, reduktivnom eliminacijom nastaje produkt Sonogashira-ine reakcije stvaranjem veze između arila i alkina, uz regeneraciju paladijevog katalizatora u paladijevom katalitičkom krugu.



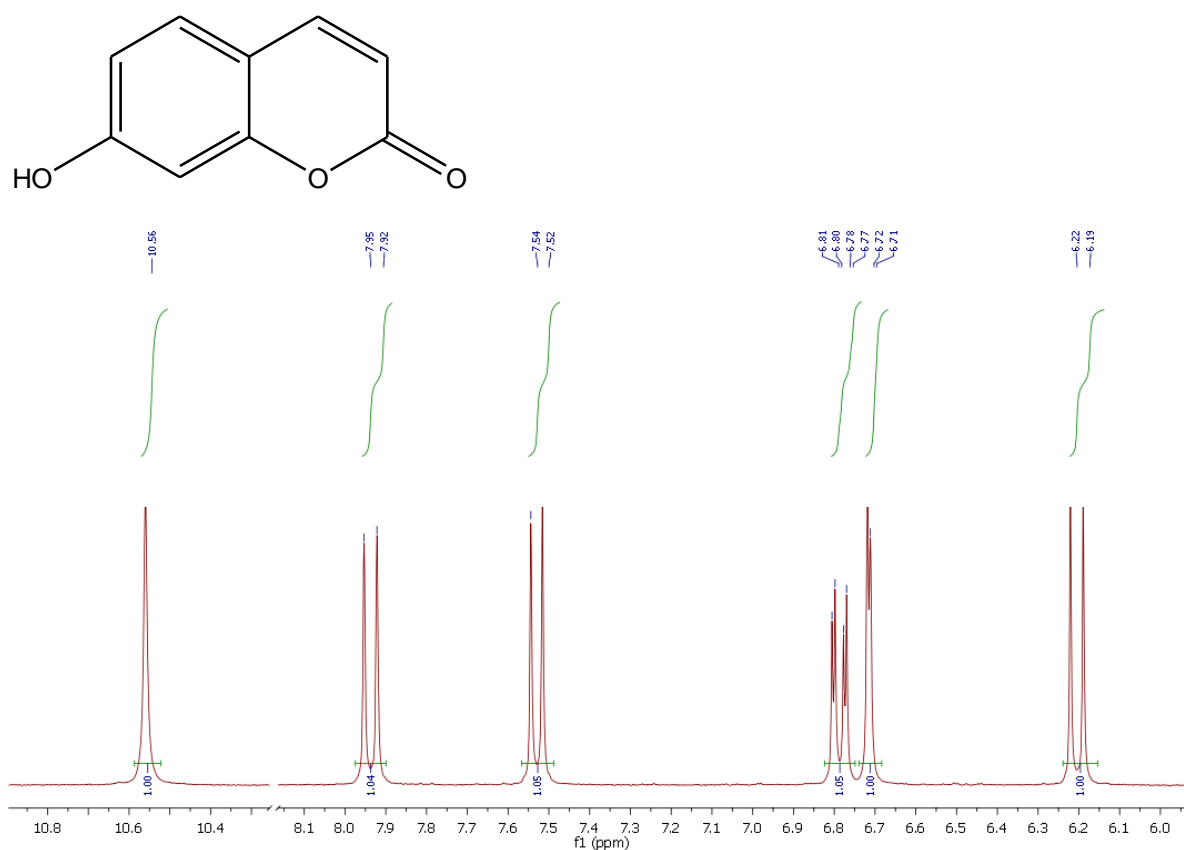
Shema 5. Mehanizam Sonogashira-ine reakcije

#### 4.2. Strukturna karakterizacija spojeva $^1\text{H}$ NMR spektroskopijom

Asigniranje  $^1\text{H}$  NMR spektara provedeno je na osnovu kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta rezonancija te H-H konstanti sprega.

Spektri  $^1\text{H}$  NMR spojeva **1-3** pokazuju signale protona kumarinskog prstena u aromatskom dijelu spektra, hidroksilne skupine u položaju C-7, te dodatnih signala u aromatskom području kod spoja **3**.

U  $^1\text{H}$  NMR spektru 7-hidroksikumarina (slika 1.) prisutni su signali: singlet intenziteta 1H za hidroksilni proton na 10,56 ppm, dublet ( $J = 9,5$  Hz) intenziteta 1H na 7,94 ppm za H-4, dublet ( $J = 8,5$  Hz) na 7,53 ppm za H-5 intenziteta 1H, dublet dubleta ( $J = 8,5, 2,3$  Hz) intenziteta 1H na 6,79 ppm za H-6, dublet ( $J = 2,2$  Hz) na 6,72 ppm intenziteta 1H za H-8 i na 6,21 ppm dublet ( $J = 9,5$  Hz) intenziteta 1H za H-3.



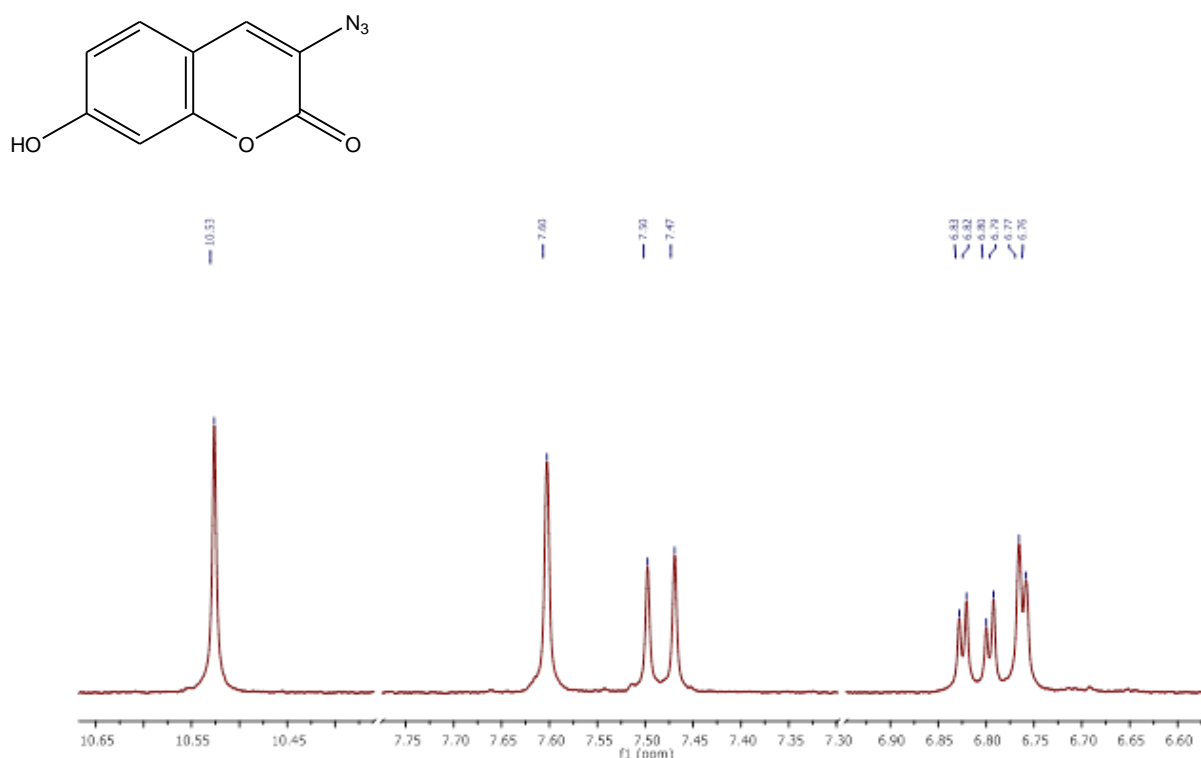
Slika 1.  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-hidroksikumarina

U  $^1\text{H}$  NMR spektru acetamidnog derivata kumarina (**1**) (slika 2.) prisutni su signali za protone kumarinskog prstena čime je dokazan nastanak kumarinskog derivata Perkinovom ciklizacijom. U spektru su prisutni signali: singlet na 8,62 ppm intenziteta 1H za proton H-4, multiplet na 7,70 ppm intenziteta 1H za H-5 proton, dublet na 7,27 ppm ( $J=2,1$  Hz) intenziteta 1H za H-8 proton i multiplet na 7,14 ppm intenziteta 1H za H-6 proton. Pored navedenih signala, prisutan je i singlet na 9,76 ppm intenziteta 1H amidnog protona, te signali za metilne protone vezane za amidnu (dublet,  $J=5,4$  Hz na 2,27 ppm intenziteta 3H) i karboksilnu skupinu (singlet na 2,17 ppm intenziteta 3H). Usporedbom  $^1\text{H}$  NMR spektara 7-hidroksikumarina i spoja **1** vidljivo je da su u spektru spoja **1** prisutni signali metilnih protona acetilnih skupina uz istovremeni izostanak signala za proton hidroksilne skupine u položaju 7 kumarina.



Slika 2.  $^1\text{H}$  NMR spektar acetamidnog derivata kumarina (**1**)

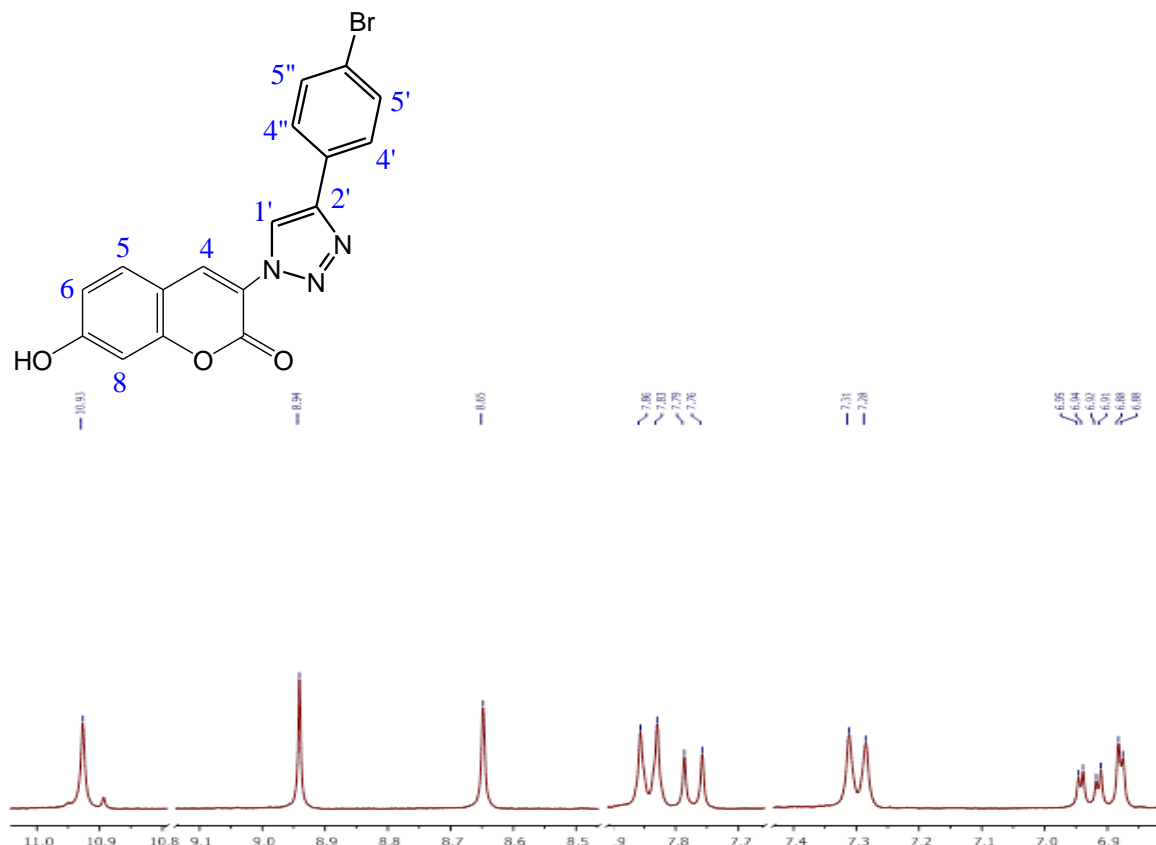
Usporedbom  $^1\text{H}$  NMR spektara spoja **2** (slika 3) i spoja **1**, može se uočiti da spektar spoja **2** pokazuje signale za protone kumarinske jezgre uz istovremeni izostanak signala za amidni proton i protone metilne skupine vezane za amidnu i karboksilnu skupinu čime je potvrđeno nastajanje 3-azido derivata kumarina **2**.



Slika 3.  $^1\text{H}$  NMR spektar 3-azido-7-hidroksi-2*H*-kromen-2-ona (**2**)

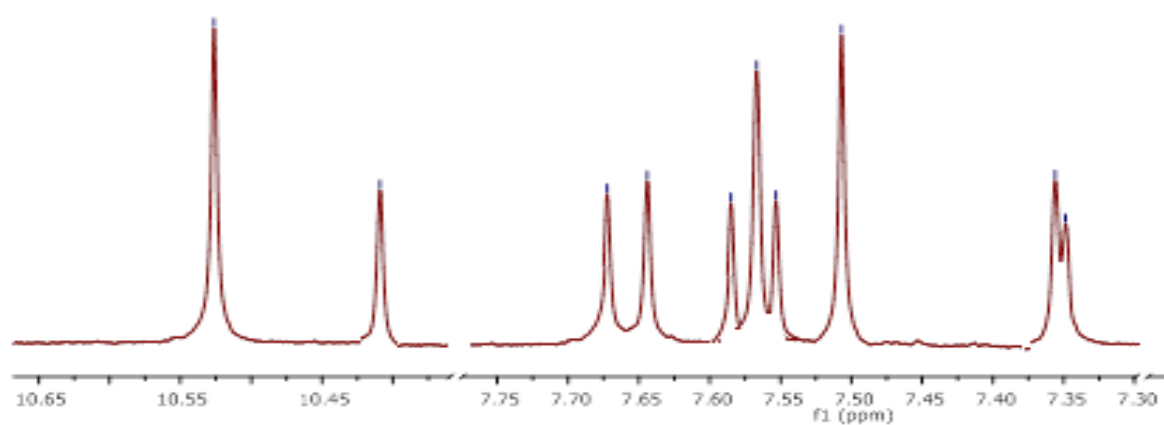
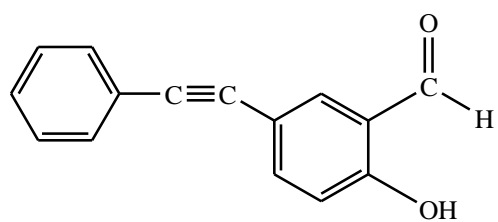
$^1\text{H}$  NMR spektar spoja **3** (slika 4) pokazuje signale za protone kumarinskog prstena (singlet intenziteta 1H na 8,62 ppm za H-4, dublet intenziteta 1H na 7,85 ppm za H-5, dublet dubleta intenziteta 1H na 6,93 ppm za H-6, dublet intenziteta 1H na 6,87 ppm), signal za proton hidroksilne skupine na 10,92 ppm, singlet intenziteta 1H na 8,94 za proton triazolnog prstena i signale za fenilni supstituent u položaju 4 triazola u aromatskom području (dublet intenziteta 2H na 7,77 ppm za H-5', dublet intenziteta 2H na 7,30 ppm za H-4').





Slika 4.  $^1\text{H}$  NMR spektar 7-hidroksi-3-(4-(*p*-brom-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-2*H*-kromen-2-ona (**3**)

$^1\text{H}$  NMR spektar spoja **4** (slika 5) pokazuje singlet intenziteta 1H za aldehidni proton na 10,52 ppm, singlet intenziteta 1H za proton hidroksilne skupine na 10,41 ppm i u aromatskom dijelu spektra: dublet intenziteta 1H na 7,65 ppm za H-4, multiplet intenziteta 5H na 7,56 ppm za protone fenilnog supstituenta u položaju H-5, singlet intenziteta 1H za H-6 na 7,51 ppm i dublet intenziteta 1H za H-3 na 7,35 ppm. Usporedbom sa spektrom početnog spoja, 5-brom-2-hidroksibenzaldehida u  $^1\text{H}$  NMR spektru spoja **4** prisutni su dodatni signali u aromatskom području za protone fenilnog supstituenta uvedenog u položaj 5 2-hidroksibenzaldehida.



Slika 5. <sup>1</sup>H NMR spektar 2-hidroksi-5-(feniletinil)-benzaldehyda (**4**)

## 5. ZAKLJUČCI

- 3-azido-7-hidroksikumarin (**2**) pripravljen je domino reakcijom polazeći iz dihidroksibenzaldehida i *N*-acetilglicina
- višestupnjevita reakcija bez izolacije međuprodukta uključuje u prvom stupnju Perkinovu reakciju 2,4-dihidroksibenzaldehida i *N*-acetilglicina pri čemu nastaje 3-acetamido-2-okso-2*H*-kromen-7-il acetata, u drugom stupnju deacetiliranje i u trećem reakciju diazotacije u kojoj je dobiveni 3-nitro-7-hidroksikumarin preveden s  $\text{NaN}_3$  u 3-azido-7-hidroksikumarin **2**.
- Mikrovalovima potpomognutom „click“ reakcijom 3-azido-7-hidroksikumarina (**2**) s arilnim terminalnim alkinom uz Cu kao katalizator sintetiziran je 4-(4-bromfenil)-1,2,3-triazolni derivat kumarina **3**.
- Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 5-brom-2-hidroksibenzaldehida s fenilacilenom uz katalizator  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  i CuI kao kokatalizator pripravljen je 2-hidroksi-5-(feniletinil)benzaldehyd (**4**)
- Strukture pripravljenih spojeva potvrđene su  $^1\text{H}$  NMR spektroskopijom.
- Novosintetiziranim spojevima biti će ispitana antioksidativna i antitumorska aktivnost na tumorskim staničnim linijama porijeklom iz čovjeka.

## 6. LITERATURA

- [1] P.K.Jain , H.Joshi, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* , 2012, **06**, 236-240.
- [2] K.A. Kumar, N.Rennka, G. Pavithra, G.V. Kumar, *J.Chem.Pharm.Res.*, 2015, **7**, 67-81.
- [3] K.N. Venugopola, V. Rashmi, B. Odhav, *BioMed. Res. Int.*, 2013, **2013**, 1-14.
- [4] C. Kontogiorgis, A. Detsi, D. Hadjipavlon-Litina, *Expert Opin. Ther. Patents*, 2012, **22**, 1744-7674.
- [5] M. Molnar, M. Čačić, *Croat,J. Food Sci Technol.*, 2013, **3**, 55-64.
- [6] F.G. Medina, J.G. Marrero, M. Macias-Alonso, M.C. Gonzales, I. Cordova-Guerrero, A.G.T. Garcia, S. Osequenda-Robles, *Nat. Prod. Rep.*, 2015, **32**, 1472-1507.
- [7] L.F. Tietze, *Chem. Rev.*, 1996, **96**, 115-136.
- [8] R.E. Patre, P.S. Parameswaran, S.G. Tilve, *ARKIVOC*, 2011, **IX**, 68-76.
- [9] W.-H. Zhan, J.-L. Hua, Y.-H. Jin, X. Teng, H. Tian, *Res. Chem. Intermed.*, 2008, **2-3**, 229-239.
- [10] M.A. Al-Haiza, M.S. Mostafa, M.Y. El-Kady, *Scientific Journal of King University*, 2005, **1**, 75-92.
- [11] F. Borges, F. Roleira, N. Milhazes, L. Santana, E. Uriarte, *Curr. Med. Chem.*, 2005, **12**, 887-916.
- [12] M. M. Darla, B. S. Kirsha, K.U. Rao, N.B. Reddy, M.K. Srivash, K. Adeppa, C.S. Sundar, C.S. Reddy, K. Misra, *Res. Chem. Intermed.*, 2013, **1**, 1164-1258.
- [13] P.-Y. Lin, K.-S. Yeh, C.-L. Su, S.-Y. Sheu, T.J. Chen, K.-L. On, M.-H. Lin, L.-W. Lee, *Molecules*, 2012, **17**, 10846-10863.
- [14] J.M. Timonen, R.M. Nieminen, O. Sareila, A. Gonlas, L.J. Moilanen, M. Haukka, P. Vainiotalo, E. Moilanen, P.H. Aulaskari, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, **46**, 3845-3850.

- [15] D.P. Yeggoni, M. Gokara, D.M. Manidhar, A. Rachamallu, S. Nakka, C.S. Reddy, R. Subramanyam, *Mol. Pharmaceutics*, 2014, **1**, 1-52.
- [16] L. Xu, X.-Y. Zhao, Y.-L. Wu, W. Zhang, *Atlantis Press*, 2015, **9**, 135-138.
- [17] X.-F. Wu, H. Neumann, M. Beller, *Concepts for Efficient Organic Synthesis*, 2014, **1**, 7-30.
- [18] R.M. Mathur, *Trans. Faraday Soc.*, 1958, **54**, 1609-1612.
- [19] S. Kumar Chaudhuri, S. Roy, S. Bhar, *J. Org. Chem.*, 2012, **8**, 323-329.
- [20] Eric M. Phillips, Manabu Wadamoto, Howard S. Roth, Andrew W. Ott and Karl A. Scheidt, *Department of Chemistry*, 2009, **11**, 105-108.
- [21] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, **40**, 2004-2021.
- [22] Dag, A.; Durmaz, H.; Kirmizi, V.; Hizal, G.; Tunca, U. *Polym. Chem.*, 2010, **1**, 621–623; Xiong, X. Q.; Xu, Y. H. *Polym. Bull.*, 2010, **65**, 455-463; Li, Y.; Michinobu, T. *Polym. Chem.*, 2010, **1**, 72-74.
- [23] Sonogashira, K., *J. Org. Chem.*, 2002, **653**, 46-49.
- [24] Kollhofer, A., Pullmann, T., Plenio, H. *Angew. Chem. Int.*, 2003, **9**, 1056-1058.
- [25] Liang, Y.; Xie, Y.; Li, J. *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 379–381.
- [26] Liang, B.; Dai, M.; Chen, J.; Yang, Z.; *J. Org. Chem.*, 2005, **70**, 391–393.
- [27] M. Meldal i C.W. Tornøe *Chem. Rev.* 2008, **108**, 2952-3015.

## **ŽIVOTOPIS**

Rođen sam u Zenici, Bosna i Hercegovina 14. srpnja 1994. godine. Osnovnu školu sam završio 2009. godine, a zatim sam upisao Opću gimnaziju koju sam završio 2013. godine u Hvaru, na otoku Hvaru. Nakon završetka srednje škole, 2013. godine sam upisao Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, studij Primijenjena kemija. Stručnu praksu sam odradio na Institutu Ruđer Bošković, Zavod za organsku kemiju.